

Aus dem Pathologischen Institut
(Direktor: Prof. Dr. H. Bredt)
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**Die Darmschleimhaut der Ratte
im absoluten Hungerzustand
unter enzymhistochemischen Aspekten**

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
zur Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
Peter Kray
aus Würzburg

Mainz 1972

Aus dem Pathologischen Institut (Direktor: Prof. Dr. H. Bredt)
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Die Darmschleimhaut der Ratte im absoluten Hunger-
zustand unter enzymhistochemischen Aspekten.

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
zur Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
Peter KRAYER
aus Würzburg

Mainz 1972

Fachbereichsdekan:	Prof. Dr. R. Wolf
Referent:	Prof. Dr. A. Schäfer
Coreferent:	Prof. Dr. H. Bredt



Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung	1
II. Material und Methoden	3
III. Ergebnisse bisheriger Untersuchungen zur Lokalisation der Enzyme	9
IV. Ergebnisse eigener Untersuchungen	
A. Morphologische Ergebnisse	16
B. Ergebnisse der statistischen Auswertung	22
V. Diskussion	33
VI. Zusammenfassung	50
VII. Literaturverzeichnis	52

Lebenslauf

Anhang: Statistische Tabellen Seite 1 - 48



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung

Die chemischen Prozesse, die im Intestinaltrakt bei Verdauung und Resorption der verschiedenen Substrate, die als Nahrung zur Verfügung stehen, beteiligt sind, werden mit Hilfe spezifischer Enzyme bewerkstelligt. Solche Enzyme wirken mit bei der Spaltung grosser Moleküle, der Übertragung chemischer Gruppen, der Oxido-Reduktion, der Anlagerung oder Abspaltung von Phosphat, Wasser, Kohlendioxyd und Ammoniak. Allgemeiner ausgedrückt nehmen sie teil an Sekretion, Resorption, aktivem Transport und den energieliefernden Mechanismen, die für derartige Prozesse notwendig sind. So ist es erklärlich, dass das Resorptions-epithel des Darmes recht hohe Aktivitäten dieser Enzyme besitzt.

Es ist seit längerer Zeit bekannt, dass das histochemisch determinierte Enzymmuster verschiedener Organe, also auch der Darmepithelzelle, durch eine Anzahl endogener und exogener Faktoren verändert werden kann. Neben Alter und Geschlecht können die alimentären Bedingungen und, wie zu vermuten ist, auch tagesrhythmische Schwankungen den histochemischen Reaktionsausfall beeinflussen.

Von diesen beiden Faktoren ist bei experimentellen Ansätzen und deren Interpretation der tageszeitliche Rhythmus nicht immer in ausreichendem Maße berücksichtigt worden. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass stark unterschiedliche Resultate nach

identischen experimentellen Eingriffen auf Reaktionsunterschieden tagesrhythmisch verschieden eingestellter Organe beruhen. Zwar existieren mannigfache Beobachtungen über physiologische Tagesrhythmen in biochemischer, histologischer und insbesondere verhaltensbiologischer Hinsicht (zusammenfassende Literatur: HALBERG (32), BÜNNING (11), ASCHOFF (3), MAYERSBACH (57,58) , die Angaben über tagesrhythmische Schwankungen von Enzymaktivitäten in Zellen und Geweben von Säugetieren sind jedoch recht spärlich.

Mehr Informationen wurden über die zytochemische Reaktion des Darmepithels auf verschiedene diätische Belastungen gesammelt. Solche Veränderungen, die als Adaptationen des intrazellulären Stoffwechsels aufzufassen sind, beinhalten auch Konzentrationsänderungen von Enzymen und anderen spezifischen Proteinen. Wie der Darmtrakt auf Nahrungsentzug reagiert, ist bei ACHORD (1) beschrieben, ohne jedoch näher auf die enzymatische Struktur einzugehen. Insgesamt sind die Befunde über den Einfluss von akutem Hunger auf die Darmschleimhaut spärlich, und zum Teil widersprüchlich.

In der vorliegenden Arbeit wird versucht, die Einwirkung von akutem Hunger verschiedener Dauer auf einige Hydrolasen und Dehydrogenasen im Darmepithel der Ratte sowie das tagesrhythmische Verhalten dieser Enzyme nach drei Tagen Hunger zu erfassen. Die erhaltenen Befunde werden mit der vorliegenden Literatur verglichen.

II. Material und Methoden

Für die Untersuchungen wurden männliche Albino-ratten eines Sprague-Dawley Stammes (Zucht des Pathologischen Institutes Mainz) verwendet. Die Tiere wogen zwischen 200 und 400 Gramm. Als Futter diente eine Standardnahrung (Altromin R 10 Mischfutter). Die Tiere wurden unter gleichen Bedingungen in Einzelkäfigen bei Zimmertemperatur und normalem Tageslicht gehalten. Es wurden keine Vorkehrungen zur Verhinderung der Koprophagie getroffen. Die Untersuchungen wurden während der Monate Oktober und November vorgenommen.

Versuch 1: Den Versuchstieren war die Nahrung für folgende Zeiträume entzogen worden: 8 bzw. 16 Stunden, 1, 2, 3, 5, 7 und 11 Tage. Wasser stand ab lib. zur Verfügung. Nach jedem der Zeitpunkte wurden drei Tiere zusammen mit ad lib. ernährten Kontrolltieren untersucht. Nach Betäubung der Tiere mit Äther wurden nacheinander folgende, ein Zentimeter lange Darmabschnitte entnommen:

- 1) vom oberen Duodenum unmittelbar nach dem Pylorus
- 2) vom oberen Jejunum unmittelbar nach der Flexura duodeno-jejunalis
- 3) und 4) zwei weitere Abschnitte in gleichen Abständen aus dem Teil zwischen der Flexura duodeno-jejunalis und der Ileocoecalclappe, entsprechend dem unteren Jejunum u.o. Ileum

5) vom unteren Ileum, unmittelbar vor der Ileo-coecalklappe

6) vom Colon ascendens

Die Entnahme des Darmes erfolgte regelmässig um 16.00 Uhr.

Die sechs Darmabschnitte eines Tieres wurden sofort nach ihrer Entnahme zusammen mit ihrer Längsachse senkrecht auf einen Mikrotomtisch (System Dittes-Duspiva) mit Kohlensäureschnee aufgefroren. Von einem so gewonnenen Gewebsblock wurden für jedes zu untersuchende Enzym vier Kryostatschnitte angefertigt. Die Schnittdicke betrug einheitlich 16 /^u.

Versuch II: Den Versuchstieren war die Nahrung für drei Tage entzogen worden. Wasser stand ad lib. zur Verfügung. Die Darmabschnitte wurden nach der bei Versuch I beschriebenen Methode an folgenden Zeitpunkten entnommen: 4.00, 8.00, 12.00, 16.00, 20.00, 24.00 Uhr. Zu jeder Tageszeit wurden fünf Tiere untersucht. Die Untersuchungen wurden an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen ausgeführt. Dabei wurde jeweils Material von verschiedenen Zeitpunkten zusammen verarbeitet. Die Anfertigung der Schnitte erfolgte wie bei Versuch I beschrieben.

Histochemische Methoden:

Die histochemische Bearbeitung der Schnitte schloss sich unmittelbar an. Es gelangten folgende Enzyme zur Untersuchung:

Alkalische Phosphatase (APH)

5 - Nucleotidase (NUC)

Leucylaminopeptidase (LAP)

Succino-Dehydrogenase (SDH)

Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PD)

Isocitronensäure-Dehydrogenase (IDH)

Folgende Methoden wurden benutzt:

APH: Metallsalzmethode nach GOMORI (30)

Fixation in 4%igem neutralem Formalin, 12 Stunden bei 5° C,

Substrat: Na-β-Glycerophosphat, Inkubation bei pH 9.2 und 37° C, 90 Min., Farbentwicklung mit Kobaltnitrat und Ammoniumsulfidlösung: Eindeckung in Eukitt nach Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe.

NUC: Schwermetallsimultanmethode nach v. DEIMLING (18)

Fixation in 6%igem Glutaraldehyd 5 Min. bei 5° C: Substrat: Dinatriumadenosinmonophosphat (AMP): Inkubation bei pH 7.0-7.2 und 37° C, 60 Min.: Farbentwicklung mit Ammoniumsulfidlösung: Eindeckung in Eukitt nach Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe

LAP: Methode nach NACHLAS (65)

Substrat: 1-Leucyl- β -naphtylamid: Inkubation bei pH 6.5 und 37° C, 90 Min.: Nachbehandlung: Waschen in NaCl-Lösung und Kupfersulfatlösung: Fixation in 10%igem neutralem Formalin, 12 Stunden: Eindeckung in Glyzeringelatine

SDH: Methode nach NACHLAS und Mitarb. (66)

Substrat: Na-succinat: Inkubation bei pH 7.6 und 37° C, 120 Min.: Fixation in 10%igem neutralem Formalin, 12 Stunden: Eindeckung in Glyzeringelatine

G-6-PD: Methode nach RUDOLPH und KLEIN (85)

Substrat: Glucose-6-phosphat: Inkubation bei pH 7.0-7.2 und 37° C, 60 Min.: Fixation in 10%igem neutralem Formalin, 12 Stunden: Eindeckung in Glyzeringelatine

IDH: Methode nach NACHLAS und Mitarb. (67)

Substrat: Isocitronensäure: Inkubation bei pH 7.6 und 37° C, 60 Min.: Fixation in 10%igem neutralem Formalin, 12 Stunden: Eindeckung in Glyzeringelatine

Auswertung: Die Auswertung der Präparate erfolgte mit Hilfe eines Lichtmikroskopes. Es wurden sieben Grade des histochemischen Reaktionsausfalles in den Zottenepithelien zugrundegelegt. Dazu wurden für jedes Enzym Leerwerte angefertigt, die als Minimum der histochemischen Reaktionen zu werten sind. Davon ausgehend wurden zu Beginn jeder quantitativen Enzymauswertung sieben Präparate herausgesucht, die den einzelnen Bewertungsstufen deutlich zugeordnet werden konnten. Diese Präparate wurden während der Auswertung unter dem Mikroskop als Vergleich mitgeführt. Dem Auswertenden wurden die Präparate in unbekannter Reihenfolge und ohne Signatur gereicht, um eine Beeinflussung auszuschalten. Anstelle der üblichen histochemischen Bewertung (0- +++) wurde folgende Reaktionsskala erstellt und mit arabischen Ziffern versehen:

1 = keine Reaktion (--)

2 = sehr schwache Reaktion (+)

3 = schwache Reaktion +

4 = schwache bis mässige Reaktion +- ++

5 = mässige Reaktion ++

6 = mässige bis starke Reaktion ++- +++

7 = starke Reaktion +++

Ein kurzer Hinweis zur Auswertungsmethode sei erlaubt. Rassner und Mitarb. (81) geben an, dass eine genauere Korrelation zwischen biochemisch gemessenen Enzymaktivitäten und dem subjektiv geschätzten histochemischen Reaktionsausfall nur schwer zu erbringen sei. Quantitative Aussagen mittels subjektiv bewerteter Reaktionsausfällen seien jedoch bei Beschränkung auf eine Verlaufskontrolle und als grobe Schätzung zumindest der maximalen und minimalen Werte durchaus möglich.

Methode der statistischen Auswertung: Nach der visuellen Auswertung der Präparate wurden die Bewertungsstufen auf Lochkarten übertragen. Mit Hilfe der einfachen Datenverarbeitung wurde für jedes Enzym pro Darmabschnitt und Zeitpunkt die Anzahl der ausgewerteten Schnitte n , der Mittelwert $\bar{x}$ und die Standardabweichung s errechnet. Die Ergebnisse sind für Versuch I in der Tabelle I, für Versuch II in der Tabelle V angegeben.

Die Mittelwerte zeigten zum Teil recht erhebliche Unterschiede. Zur Signifikanzprüfung wurde die einfache Varianzanalyse herangezogen (Koller (50)). Sie gestattet nur eine pauschale Aussage, ob zwischen den geprüften Mittelwerten ein mehr als zufälliger Unterschied besteht. Um aussagen zu können, zwischen welchen Zeitpunkten und Darmabschnitten signifikante Unterschiede bestehen, war es nötig, Kontraste zu bilden. Mit Hilfe des Scheffé-Tests kann man nun feststellen, welche Mittelwerte signifikante Unterschiede ergeben (Koller (50)). Die Ergebnisse sind für Versuch I in den Tabellen II, III, IV und IVa, für Versuch II in den Tabellen VI und VII angegeben. Die Tabellen enthalten im

einzelnen:

Tab. I die einfache Datenbeschreibung mit Fallzahl (n), Mittelwert ($\bar{x}$) und Standardabweichung (s) für die Kontroll- und Versuchsgruppen von Versuch I.

Tab. II die Ergebnisse der einfachen Varianzanalyse für die Kontroll- und Versuchsgruppen von Versuch I. Jeder der sechs Darmabschnitte wurde geprüft auf Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Kontrollgruppen sowie den Mittelwerten der Versuchsgruppen zu den acht Zeitpunkten des fortschreitenden Hungerzustands. Die zugehörigen Scheffe-Tests sind in Tab. IV (Kontrollgruppen) und Tab. IVa (Versuchsgruppen) enthalten.

Tab. III das Ergebnis der einfachen Varianzanalyse für den Vergleich der Kontroll- mit den Versuchsgruppen von Versuch I. Es wurde geprüft der Unterschied zwischen den Mittelwerten jeweils des gleichen Zeitpunkts und Darmabschnitts von Kontroll- und Versuchsgruppen.

Tab. IV das Ergebnis der Scheffe-Tests zur einfachen Varianzanalyse für die Kontrollgruppen von Versuch I,

Tab. IVa das Ergebnis für die Versuchsgruppen (siehe Tab. II).

Tab. V die einfache Datenbeschreibung von jeweils sechs Darmabschnitten und Zeitpunkten der Versuchsgruppen von Versuch II.

Tab. VI das Ergebnis der einfachen Varianzanalyse für Versuch II. Jeder der sechs Darmabschnitte wurde geprüft auf Unterschiede zwischen den Mittelwerten zu den sechs Zeitpunkten für die tageszeitlichen Untersuchungen. Die zugehörigen Scheffe-Tests sind in

Tab. VII enthalten.

III. Ergebnisse bisheriger Untersuchungen zur Lokalisation der Enzyme

Alkalische Phosphatase

Der erste histochemische Nachweis der APH geht auf GOMORI (30) zurück. KABAT und FURTH (47) fanden

im oberen Dünndarm des Menschen, des Hühnchens und der embryonalen Maus eine intensive, im Colon dagegen nur eine schwache Reaktion. GREENSTEIN (31) gab an, dass die grösste Konzentration der APH im Darmepithel zu finden sei. BOURNE (8) wies als erster auf die verschiedene Lokalisation im Bürstensaum und Zellkörper des Darmepithels hin. Im folgenden benutzten viele Untersucher (DEANE und DEMPSEY (17), EMMEL (24), HERBERT (36), JOHNSON und KUGLER (45), MOOG (63) die Gomorische Methode. Sie alle fanden eine hervorstechende Aktivität im Duodenum und Jejunum der verschiedenen Versuchstiere (Ratte und Maus). Der Nachweis war vor allem im Bürstensaum und in den Golgi-Apparaten entsprechenden Zonen des Resorptionsepithels möglich. VERZAR und Mitarb. (105) kamen in ihren schönen histochemischen Studien zu ähnlichen Ergebnissen für den Rattendarm und wiesen auch auf die verstärkte Anfärbung der Zellkerne mit zunehmender Inkubationsdauer hin. Nach RICHTERICH (84) ist die Existenz einer solchen Kernphosphatase nicht in Zweifel zu ziehen. SHNITKA und LESHER (90) sprachen von einer bilaminaren Verteilung der Aktivität im Bürstensaum und im apikalen Zytoplasma der Zottenepithelien. Im Colon fehle die Aktivität völlig. Eine starke Reaktion in den Bürstensäumen, Golgi-Apparaten und Zellmembranen des Darmepithels der Ratte wurde von JERVIS (44) beschrieben, ausserdem eine vom Pylorus zur Ileocoecalclappe abnehmende Konzentration.

Eine Einfärbung der Zottenkapillaren sei möglich, die normalerweise schwache Aktivität in der Lamina propria könne unter pathologischen Verhältnissen erhöht sein (siehe auch PADYKULA und Mitarb. (71)).

Angaben über die Verteilung der APH im menschlichen Dünndarm sind bei MANNHEIMER und SELIGMAN (56), FODDEN (25), PADYKULA und Mitarb. (71) und DAWSON und PRYSE-DAVIES (16) zu finden. MANNHEIMER und SELIGMAN (56) konnten im Colon keine Aktivität nachweisen. Übereinstimmend wird die Anfärbung des Endothels der Blutgefäße in der Lamina propria und submucosa beschrieben.

Ebenso stimmen fast alle Autoren überein, das das Kryptenepithel eine zumindest schwächere, wenn nicht gar keine Aktivität besitzt. Dies traf für alle untersuchten Tierspezies, auch für die menschliche Darmschleimhaut, zu. Zur Verteilung über die einzelnen Darmabschnitte wird eine hohe Konzentration in den proximalen, eine niedrige in den distalen Abschnitten angegeben (MEIER (60), LOJDA und FABRY (55), PADYKULA und Mitarb. (71), DAWSON und PRYSE-DAVIES (16). TRIANTAPHYLLOPOULOS und TUBA (102) massen biochemisch eine vom Ileum zum Duodenum ansteigende Aktivität. NOACK und Mitarb. (69) bezifferten die Aktivität im Duodenum 5 - 6 mal höher als im Ileum.

Biochemische Untersuchungen von EICHOLZ und CRANE (23), CRANE (15) sowie elektronenoptische Studien von DARNETT (5) zeigten die strukturelle Verbindung der APH mit dem Mikrovilli des Bürstensaumes auf. Diese Befunde stimmen recht gut mit dem biochemischen Konzept der resorptiven Vorgänge im Darm überein.

Leucylaminopeptidase

Im Darm wurde die LAP erstmals von BURSTONE und FOLK (13) demonstriert. Sie stellten eine intensive Anfärbung im Zottenepithel des Rattendarmes fest. NACHELAS und Mitarb. (65) untersuchten den Darmlakt des Hundes und fanden eine starke Reaktion in den mittleren Anteilen der Zottenepithelien, während die Zottenspitzen und die basalen Drüenschläuche ungefärbt bleiben. MONIS und Mitarb. (62) fanden im menschlichen Colon eine schwache, streifenförmige Reaktion im Kryptenepithel. WATTENBERG (106) beobachtet eine intensive Anfärbung der menschlichen Dünndarmschleimhaut, überwiegend in den Zottenepithelien. SMITKA und LESNER (90) gaben an, dass die LAP in allen Dünndarmsegmenten der Ratte vorhanden sei. Die Reaktion beschränke sich auf das Zottenepithel, und zwar auf die den Bürstensäumen entsprechenden Zellanteile, während die Brunner'schen Drüsen und die Krypten negativ blieben. SCHOBEL und Mitarb. (88) demonstrierten die LAP im Duodenum des Menschen. Die Epithelzellen der Zottenoberfläche boten eine intensive Reaktion, am stärksten der Bürstensaum, während im Zytoplasma lediglich ein schwacher Streifen erschien. Das

Kryptenepithel zeigte keine nennenswerte Aktivität. RIECKEN und Mitarb. (85) fanden eine Reaktion nur in den Bürstensäumen der Zottenepithelien. In der Arbeit von PEARSE und RIECKEN wird die LAP, gestützt auf die Befunde von EICHMOLZ und CRANE (23) und CRANE (15), die die Mikrovilli durch Mikrodissektion abtrennten, als membranassoziiertes Enzym bezeichnet. Angaben über die Verteilung in den einzelnen Darmabschnitten machten HSU und TARVER (42). Sie konnten keinen gravierenden Konzentrationsunterschied zwischen den proximalen und distalen Bereichen des Dünndarmes feststellen und gaben für das Colon eine nur geringe Aktivität an.

5 - Nucleotidase

Angaben über die Lokalisation der NUC im Darm finden sich bei HARDONK (33). Er lokalisierte die Aktivität im Dünndarm der Ratte vor allem im Bürstensaum, in der Lamina propria und der Ringmuskulatur der Muscularis propria. Die hohe Aktivität im Bürstensaum führte er aber eher auf die Anwesenheit einer unspezifischen Esterase zurück.

succino-Dehydrogenase

Nach Untersuchungen von NACHLAS und Mitarb. (66) ist die Aktivität der SDH im Darm von vergleichbarer

Größenordnung wie in der Leber. Dies ist verständlich, wenn man sich vor Augen hält, dass zumindest einige der intestinalen Stoffwechselvorgänge wie zum Beispiel die Kohlehydrat-Resorption, an die oxidative Phosphorylierung gekoppelt sind.

PADYKULA (70) wies schwache Niederschläge im Resorptionsepithel nach mit einigen Granula supra- und infranukleär. Das Colon zeigte eine mässige Aktivität. NACHLAS und Mitarb. (66) demonstrieren die SDH mit NBT als Elektronenakzeptor im Dünndarm der Ratte. Die Epithelzellen im Duodenum färbten sich gleichmässig und stark. Die Brunner'schen Drüsen erschienen insgesamt etwas schwächer, ebenso das Zottenepithel im Jejunum und Ileum. Im Colon fand sich eine intensive Reaktion. Das intrazelluläre Bild der Verteilung entsprach weitgehend der Lokalisation der Mitochondrien. BUNO und GERMINO (12) gaben eine starke Reaktion in den Krypten des Rattencolon an. Diese Befunde wurden von SHNITKA und LESHER (90) bestätigt. Im Jejunum und Ileum sei die Reaktion im Zottenepithel am stärksten. SCHOBEL und Mitarb. (88) wie auch MYREN und Mitarb. (64) lokalisierten die SDH beim Menschen im apikalen und basalen Zytoplasma der Darmepithelien. Auch RIECKEN und Mitarb. (85) gaben an, dass das Enzym vor allem supra- und infranukleär zu finden sei. Die Krypten und die Lamina propria erschienen in ihrer Gesamtheit schwächer in der Reaktion.

DPN- und TPN- abhängige Dehydrogenasen

Die hier zur Darstellung gekommenen Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PD) und Isocitronensäure-Dehydrogenase (IDH) zeigen wie die anderen Dehydrogenasen im wesentlichen dasselbe Bild der intrazellulären Verteilung und der Verteilung über die einzelnen Darmabschnitte und können deshalb zusammen abgehandelt werden

Eine Beschreibung des qualitativen Reaktionsausfalles der DPNH-Diaphorase, an die alle Dehydrogenasen gekoppelt sind, liefert JERVIS (44) anhand von Ratten. Es fand sich Aktivität in allen Zellen des Dünndarms, in besonders hoher Konzentration in den Epithelzellen. Die intrazelluläre Verteilung stellte sich wie folgt dar: hohe Konzentration in den basalen und apikalen Regionen des Zytoplasmas, keine Reaktion in den Zellkernen, in den Zotten starke und gleichmässige Aktivität. Zu den selben Ergebnissen gelangten SIEMPICA und Mitarb. (6). RUDOLPH und KLEIN (86) untersuchten die G-6-PD im Dünndarm und Colon der Ratte und lokalisierten sie in den Epithel- und Ganglienzellen des Dünndarms, im Epithel bevorzugt im apikalen und basalen Zytoplasma. Im Colon und im Kryptenepithel sei nur eine schwache Reaktion zu finden. Die recht hohe Aktivität der G-6-PD in den Dünndarmepithelien sei vielleicht damit zu erklären, dass sich der Pentose-Phosphatzyklus, in dem die G-6-PD eine Rolle spielt,

hauptsächlich in stoffwechselaktiven Geweben (Epithelien, Drüsen mit innerer Sekretion, Nerven) abspiele. Nach RIECKEN und Mitarb. (85) fand sich die maximale Aktivität der Malat-, Lactat- und β -Hydroxybuttersäure-Dehydrogenase in den supra- und infranukleären Regionen der Zottenepithelien bei der Ratte.

IV. Ergebnisse eigener Untersuchungen

A. Morphologische Ergebnisse

Alkalische Phosphatase: Bei den unbehandelten Kontrolltieren (Versuch I) fällt die Reaktion allgemein sehr stark aus. In den Zottenepithelien des Duodenum findet sich Aktivität in einer breiten apikalen und einer schmäleren supranukleären Zone. Ebenso reagieren die lateralen Zellwände positiv. Die Kryptenepithelien erscheinen negativ. Die Reaktion der Zottenkapillaren ist schwach nicht immer von der Aktivität der Epithelzellen abzugrenzen. Im Jejunum sind die Niederschläge bereits schwächer, der supranukleäre Streifen ist nur noch schwach ausgeprägt. Im oberen und unteren Ileum und im Colon finden sich im Epithel keine oder nur mehr schwache Niederschläge, während die Zottenkapillaren nun



Abb. 1 a - c: Darstellung der APh bei einem Kontrolltier im Duodenum (a), unterem Jejunum (b) und unterem Ileum (c). x 90

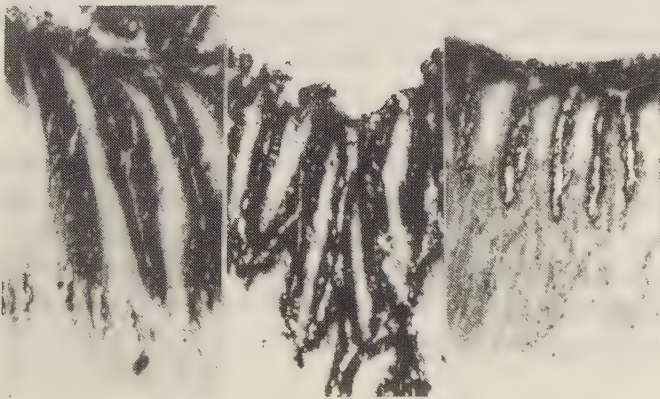


Abb. 2 a - c: Darstellung der A.Ph. bei einem Tier in fortschreitenden Hungerzustand (Versuch I) nach 5 Tagen Hunger im Duodenum (a), unteren Jejunum (b) und unteren Ileum (c). x 90

deutlicher erscheinen. Die Zellkerne reagieren in allen Darmabschnitten schwach positiv.

Die APH zeigt also in den Epithelzellen der Zotten eine von proximal nach distal kontinuierlich abfallenden Aktivität, das untere Ileum reagiert kaum noch, das Colon weitgehend negativ. In den Zottenkapillaren hingegen steigt die histochemische Aktivität nach distal an (Abb. 1a-c).

Intensität der Reaktion und Art der Verteilung der Niederschläge ergeben bei den Hungertieren (Versuch I) ein einheitliches Bild. Tiere, die nicht länger als zwei Tage gehungert haben, zeigen im Vergleich zu den Kontrolltieren nur unwesentliche Unterschiede im Reaktionsausfall. Dagegen bieten die Tiere, die drei, fünf und sieben Tage gehungert haben, deutliche Verschiedenheiten gegenüber den Kontrolltieren: In den proximalen Darmabschnitten (Duodenum, oberes Jejunum) findet sich nicht nur in den Zottenepithelien eine positive Reaktion, sondern darüberhinaus erscheinen auch die Epithelzellen der Krypten schwach positiv, ein Befund, der bei den Kontrolltieren nie erhoben werden konnte. In den Zottenepithelien der distalen Dünndarmabschnitte (oberes und unteres Ileum) zeigt sich nach drei bis sieben Tagen Hunger ebenfalls eine deutliche positive Reaktion, die im Bereich des Bürstensaumes lokalisiert ist. Die Reaktion in den Zellkernen ist in allen Darmabschnitten weitgehend negativ (Abb. 2 a - c).

Die Untersuchungen zur Tagesrhythmik (Versuch II) nach drei Tagen Hunger ergeben folgendes Bild: Ein maximaler Reaktionsausfall findet sich um 16.00 Uhr und 24.00 Uhr. Die Reaktion ist zu diesen Zeitpunkten teilweise auch in den distalen Bereichen des Dünndarms deutlich positiv. Ebenso reagieren die Kapillaren hier stärker als zu den anderen Zeitpunkten. Die Unterschiede sind aber insgesamt nicht sehr deutlich. Die Intensität der Reaktion erscheint etwas schwächer als bei den unbehandelten Kontrolltieren, die Lokalisation der Niederschläge ist die gleiche.

Leucylaminopeptidase: Bei den Kontrolltieren (Versuch I) ist die Reaktion auf die Zottenepithelien beschränkt. Es finden sich bläulich-violette, feingranuläre Niederschläge, vor allem supranukleär in einem breiten Streifen, der noch einmal unterteilt sein kann und den Bürstensäumen sowie den Golgi-Apparaten entspricht. In den basalen und lateralen Zellanteilen ist die Reaktion schwächer oder fehlt oft ganz. Ebenso kann die Reaktion in den Zottenspitzen des Duodenum fehlen. Das Colon ist bei allen Tieren völlig negativ. Die Verteilung über den einzelnen Darmabschnitten stellt sich abweichend von den übrigen Enzymen dar. Die Reaktionsstärke steigt vom Duodenum zum unteren Jejunum leicht an und fällt zu Ileum hin wieder ab, sodass das untere Ileum eine ähnliche hohe Aktivität besitzt wie das Duodenum.

Hungertiere (Versuch I) zeigen gegenüber den Kontrolltieren eine deutlich verringerte Reaktionsintensität. Bei den Tieren, die drei Tage und länger gehungert haben, findet sich nur noch eine schwache Reaktion. Häufig sind die Präparate diffus gelblich-orange verfärbt. Die intrazelluläre Lokalisation ebenso wie die Verteilung über die einzelnen Darmabschnitte ändert sich gegenüber den Kontrolltieren nicht wesentlich.

Bei den tagesrhythmischen Untersuchungen (Versuch II) treten recht deutliche Unterschiede in der Reaktionsintensität auf. Eine maximale Anfärbung findet sich um 16.00 Uhr und 24.00 Uhr, dagegen erscheinen die Tiere um 8.00 Uhr deutlich schwächer. Die intrazelluläre Lokalisation und Verteilung über die einzelnen Darmabschnitte entsprechen den bei den Kontrolltieren erhobenen Befunden. Das Colon ist immer negativ.

5-Nucleotidase: Die Darmabschnitte der Kontrolltiere (Versuch I) bieten ein ähnliches Bild wie bei der APK. Die Niederschläge sind hauptsächlich auf das Epithel der drei proximalen Dünndarmabschnitte beschränkt. Es finden sich breite Streifen im Bereich des Bürstensaums sowie eine positive Reaktion der lateralen Zellwände. Ober- und unterhalb des Zellkerns sind feinfleckige Niederschläge zu erkennen, im apikalen Zytoplasma stärkere, im basalen schwächere diffuse Reaktionen. Besonders in den distalen Dünndarmabschnitten sind die Kapillaren im Zottenstroma schwach angefärbt,

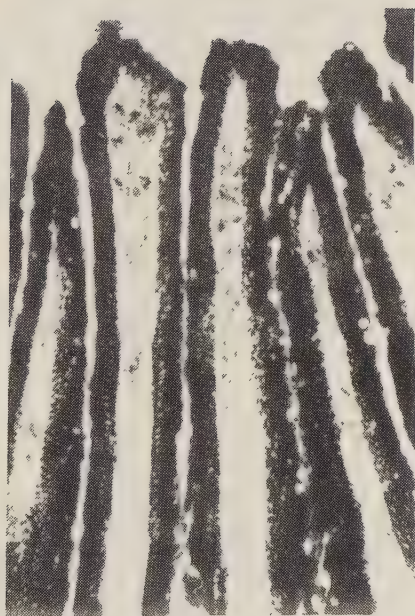


Abb. 3: Lokalisation der SDm in den Zottenepithelien des Duodenum eines Kontrolltieres. x 225

während sie im Colon negativ sind. In der Submucosa und Muscularis stellen sich die Kapillaren nicht dar.

Bei den Hungertieren (Versuch I) zeigt die LUC in den Enterozyten den gleichen histochemischen Reaktionsausfall wie bei den Kontrolltieren. Demgegenüber findet sich jedoch bereits bei den Tieren, die einen Tag gehungert haben, eine Verminderung der histochemischen Aktivität.

Eindeutige Schwankungen lassen sich ohne statistische Auswertung bei den tagesrhythmischen Untersuchungen (Versuch II) nicht sicher erkennen. Ein maximaler Reaktionsausfall scheint um 24.00 Uhr vorzuliegen. Die Lokalisation der Niederschläge ist dieselbe, wie bei den Kontrolltieren.

Succino-Dehydrogenase: In den Darmabschnitten der Kontrolltiere (Versuch I) sind kräftige, feingranulierte, dunkelblaue Formazan-Niederschläge zu erkennen, deren intrazelluläre Verteilung ein klares Bild ergibt: Es färben sich ein breiter Streifen supranukleär, ein schmaler infranukleär und eine schmale Zone seitlich des Zellkerns an. Der Zellkern selbst bleibt ausgespart. Die Reaktion schwächt sich zur Zottenbasis hin kaum ab (Abb. 3). Die Kryptenepithelien zeigen eine etwas verringerte Aktivität. Die schwache Anfärbung im Zottenstroma und in der Muscularis ist faserartig strukturiert. Der Abfall der Reaktionsstärke zum Ileum hin ist nicht sehr ausgeprägt, das Colonepithel ist deutlich

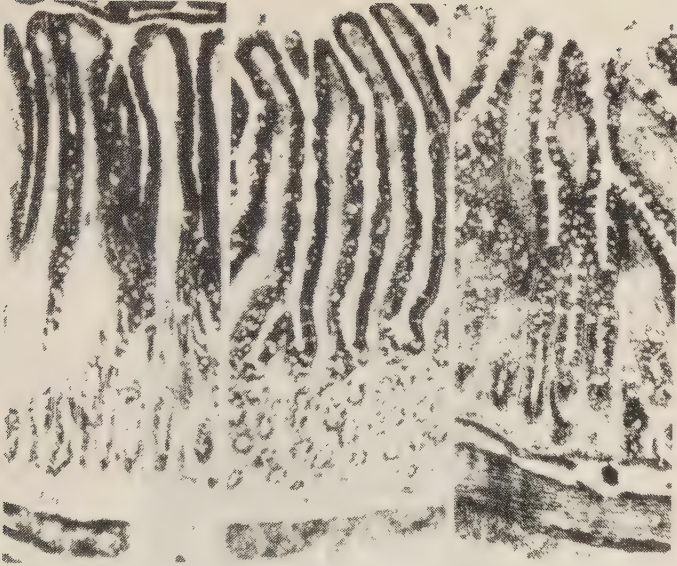


Abb. 4 a - c: Darstellung der SDM bei einem Kontrolltier im Duodenum (a), unteren Jejunum (b) und unteren Ileum (c). x 90

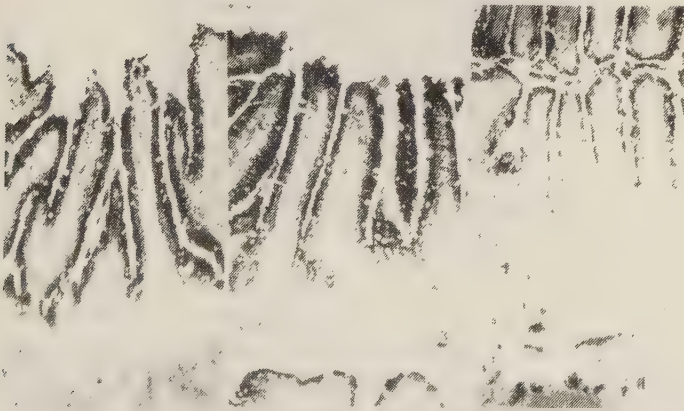


Abb. 5 a - c: Darstellung der SDM bei einem Tier im fortschreitenden Hungerzustand (Versuch I) nach 5 Tagen Hunger im Duodenum (a), unteren Jejunum (b) und unteren Ileum (c). x 90

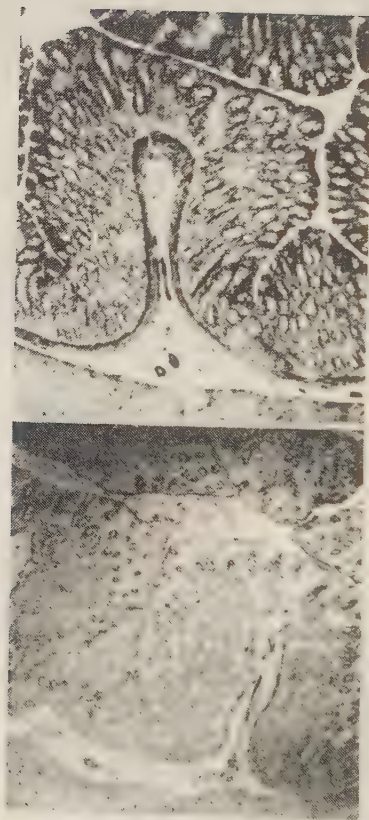


Abb. 6a und b: Darstellung der SDH im Colon bei einem Kontrolltier und bei einem Tier nach 5 Tagen Hunger (b). x 90

positiv (Abb. 4a - c). Die Muscularis erscheint insgesamt stark positiv. Ebenso ist in allen Darmabschnitten die Reaktion der Ganglien des Plexus myentericus und submucosus gleichmässig und stark.

Die Stärke des histochemischen Reaktionsausfalls bei den Hungertieren (Versuch I) zeigt nach drei Tagen Hunger eine deutliche Abnahme. Dabei ist die histochemische Verteilung der Formazangranula nicht verändert, wohl aber ihre Konzentration in den einzelnen Aktivitätszonen. Vor allem an der Zottenbasis und in den Krypten ist die Reaktion sehr stark abgeschwächt, bzw. fast völlig negativ (Abb. 5a - c). Im Ileum und Colon erscheint die Reaktion gegenüber dem oberen Dünndarm noch stärker abgeschwächt (Abb. 6a und b).

Bei den tagesrhythmischen Untersuchungen (Versuch II) sind zu den verschiedenen Tageszeiten Unterschiede weder in der histotopochemischen Verteilung noch in der Stärke des Reaktionsausfalles, also der histochemischen Aktivität, feststellbar. Gegenüber den Kontrolltieren ist die Reaktion den drei Tagen Hunger entsprechend etwas abgeschwächt.

Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase und Isocitronensäure-Dehydrogenase: Die DPN- und TPN- abhängigen Diaphorasen sind, wie die SDH, bei den angewandten Methoden durch blauschwarze Formazangranula, die sich am Ort der Reaktion niederschlagen, gekennzeichnet. Da die intrazelluläre Lokalisation an die Mitochondrien gekoppelt ist, verhalten sich beide Enzyme auch weitgehend

identisch, was Reaktionsstärke und intrazelluläre Verteilung angeht. Die Befunde entsprechen den bei den unbehandelten Kontrolltieren (Versuch I) der SDH gemachten Untersuchungen. In den distalen Dünndarmabschnitten und im Colon ist die Reaktionsstärke etwas geringer, es zeigt sich ein etwas stärkerer Abfall der Aktivität vom Duodenum zum Ileum.

Bei den Hungertieren (Versuch I) ist ähnlich wie bei der SDH bereits nach zwei Tagen Hunger eine Verminderung der histochemischen Aktivität wahrnehmbar, die alle intrazellulären Aktivitätszonen gleichermaßen betrifft.

Auch bei den tagesrhythmischen Untersuchungen (Versuch II) sind keinerlei Veränderungen in der histotopochemischen Verteilung gegenüber den Kontrolltieren zu erkennen. In geringem Ausmass scheint aber die Stärke des Reaktionsausfalls, insbesondere bei der G-6-PD, zu den verschiedenen Zeitpunkten zu differieren.

5. Ergebnisse der statistischen Auswertung

In diesem Teil der Arbeit werden die Ergebnisse der statistischen Auswertung der visuell ermittelten Werte des histochemischen Reaktionsausfalls für jedes Enzym, die einzelnen Darmabschnitte und die verschiedenen Dauer des Nahrungsentzugs bzw. die verschiedenen Tageszeiten beschrieben. Die so erhaltenen und in der Datenbeschreibung angegebenen Mittelwerte geben einen Masstab für die relative Stärke des

histochemischen Reaktionsausfalls in den sechs Darmabschnitten nach fortschreitendem Hunger und zu verschiedenen Tageszeiten. Es soll in Versuch I untersucht werden, ob eine Veränderung der Reaktionsstärke in Abhängigkeit von der Dauer des Nahrungsentzugs nachzuweisen ist, in Versuch II sollen die Maxima und Minima des histochemischen Reaktionsausfalls an den verschiedenen Tageszeiten bei Tieren, die drei Tage gehungert haben, aufgezeigt werden, um eine Aussage über tagesrhythmische Aktivitätsschwankungen machen zu können.

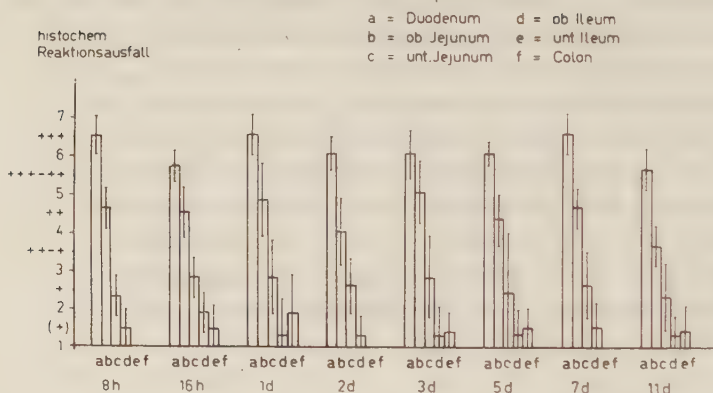
Folgende Mittelwerte wurden anhand der einfachen Varianzanalyse verglichen:

die Mittelwerte der Kontrollgruppen (Versuch I)
die Mittelwerte der Versuchsgruppen (Versuch I)
die Mittelwerte der Kontroll- mit den Mittelwerten
der Versuchsgruppe (Versuch I)
die Mittelwerte der Versuchsgruppen (Versuch II)

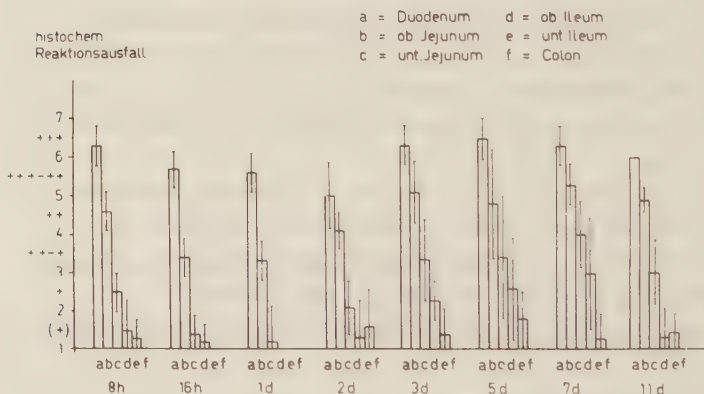
Um zu prüfen, zwischen welchen Mittelwertsgruppen die Unterschiede liegen, wurden anschliessend Scheffé-Tests für alle Vergleiche ausgeführt. Die Ergebnisse sind im tabellarischen Anhang zu entnehmen, auf den im folgenden verwiesen werden wird.

Alkalische Phosphatase: Die Darmabschnitte der Kontrolltiere (Versuch I) zeigen recht uneinheitliche Mittelwerte (Abb.7 a und Tab.S.1). Im Duodenum, oberen Jejunum und unteren Ileum ergibt

Versuch I. Kontrolle: Alkalische Phosphatase



Versuch I. Versuchsgruppe: Alkalische Phosphatase



bb. 7a und b: Diagramm der Stärke des histochemischen Reaktionsausfall der A.Ph. bei den Kontrolltieren (a) und Versuchstieren fortzuschreitenden Hungerzustand (b). Die Höhe der Säulen entspricht den errechneten Mittelwerten mit eingezeichneter Standardabweichung. Auf der Ordinate sind der Bewertung für die statistische Überprüfung des histochemischen Reaktionsausfalles (1-8) die histochemisch gebräuchliche Stärkegrade (+ = +++) zugeordnet.

die Varianzanalyse aber signifikante Unterschiede (Tab.5.2). Die Scheffé-Tests lassen nur im oberen Jejunum und unteren Ileum signifikante oder auffällige Unterschiede zwischen den einzelnen Kontrollgruppen (Tab.5.4) erkennen.

Dagegen fallen die Mittelwerte von den Darmabschnitten der Hungertiere (Versuch I) initial leicht ab, um nach drei Tagen Hunger wieder anzusteigen (Tab.5.1 und Abb 7 b). Die Varianzanalyse ergibt in allen Schlingen, ausser dem Colon, signifikante Unterschiede (Tab.5.2). Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Mittelwertsgruppen treten vor allem im oberen Jejunum, unteren Jejunum und oberen Ileum auf. Es unterscheiden sich die niedrigen Werte nach 16 Stunden, 1 Tag und 2 Tagen Hunger und die hohen nach 5 und 7 Tagen Hunger (Tab.5.5). Nach 11 Tagen Hunger tritt wieder ein leichter Abfall auf, ohne signifikante Unterschiede zu ergeben.

Im Vergleich der Kontroll- gegen die Versuchsgruppen (Versuch I) lässt sich das uneinheitliche Verhalten der Hungertiere erkennen. Signifikant niedrige Mittelwerte in allen Schlingen, ausser dem Colon, nach 16 Stunden und 1 Tag Hunger stehen gegen zum Teil signifikant höhere der Hungertiere nach 5 und 7 Tagen Hunger. Dies gilt vor allem für die distalen Darmabschnitte (unteres Jejunum, oberes Ileum und unteres Ileum).(Tab.5.1 und 3).

Die statistische Auswertung der tagesrhythmischen Untersuchungen (Versuch II) ergibt vor allem in den

Versuch II. Alkalische Phosphatase

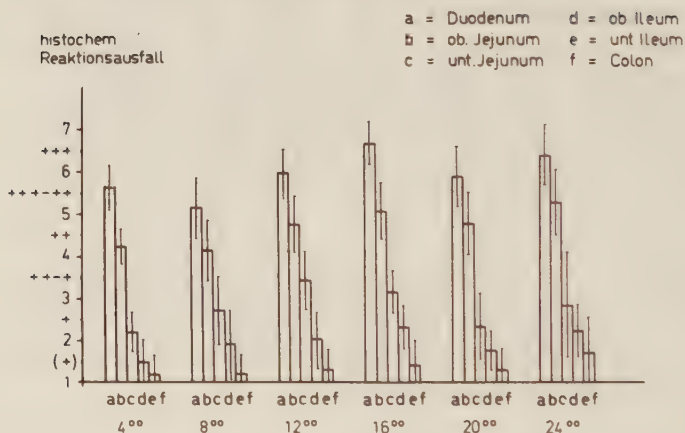


Abb. 8: Diagramm der Stärke des histochemischen Reaktionsausfalles der A.Ph. bei den Untersuchungen zur Tagesrhythmik. Die Höhe der Säulen entspricht den errechneten Mittelwerten mit eingezeichnete Standardabweichung. Auf der Ordinate sind der Bewertung für die statistische Überprüfung des histochemischen Reaktionsausfalles (1-8) die histochemisch gebräuchlichen Stärkegrade (+ - +++) zugeordnet.

proximalen Darmabschnitten deutliche circadiane Schwankungen (Abb. 8 und Tab.5.6). Die Varianzanalyse zeigt signifikante Unterschiede in allen Darmabschnitten ausser dem Colon (Tab.5.7). Der maximale Reaktionsausfall liegt bei 16.00 Uhr und 24.00 Uhr, das Minimum im Duodenum und oberen Jejunum um 8.00 Uhr, im oberen Ileum um 4.00 Uhr und 8.00 Uhr. Die Unterschiede zwischen diesen Zeitpunkten sind signifikant (Tab.5.8). Im unteren Ileum und Colon treten wegen der geringen bzw. fehlenden Aktivität keine signifikanten Unterschiede mehr auf.

Zusammenfassend lassen diese Ergebnisse erkennen, dass die APH selbst nach längerem Nahrungsentzug keinen Abfall der histochemischen Reaktionsstärke zeigt, im Gegenteil tritt eher eine Verstärkung nach 3,5 und 7 Tagen Hunger auf, ganz besonders in den distalen Darmabschnitten. Nach 3 Tagen Hunger zeigen die vier proximalen Darmabschnitte zweigipflige Schwankungen in der Reaktionsstärke der APH mit den Maxima um 16.00 Uhr und 24.00 Uhr.

Leucylaminopeptidase: Die Mittelwerte der Kontrollgruppen (Versuch I) liegen recht dicht beieinander (Tab.5.9), die Varianzanalyse ergibt aber signifikante Unterschiede in allen Darmabschnitten ausser dem Colon (Tab.5.10). Unterschiede zwischen den Gruppen treten auf im Duodenum (8 Stunden gegen 3,7 und 11 Tage Hunger) und im unteren Jejunum (8 Stunden gegen 3,7 und 11 Tage Hunger), wobei der

Versuch II. Leucylaminopeptidase

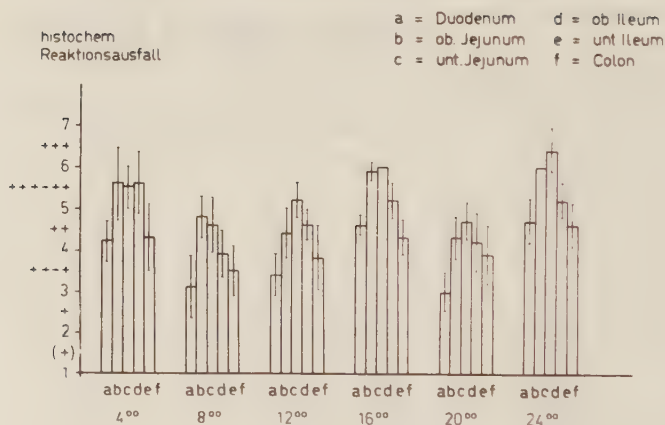


Abb. 9. Diagramm der Stärke des histochemischen Reaktionsausfalles der LAP bei den Untersuchungen zur Tagesrhythmik. Die Höhe der Säulen entspricht den errechneten Mittelwerten mit eingezeichneter Standardabweichung. Auf der Ordinate sind der Bewertung für die statistische Überprüfung des histochemischen Reaktionsausfalles (1-8) die histochemisch gebräuchlichen Stärkegrade (+ - +++) zugeordnet.

8-Stunden-Wert immer niedriger liegt (Tab.5,12).

Dagegen fallen die Mittelwerte der Versuchsgruppen (Versuch I) nach einem initialen Anstieg nach 16 Stunden Hunger kontinuierlich ab, um am 3.- 5. Hungertag das Minimum zu erreichen (Tab.5,9). Die Varianzanalyse ergibt mit Ausnahme des Colons signifikante Unterschiede in allen Darmabschnitten (Tab.5,10). Der Anstieg nach 16 Stunden Hunger ist im Duodenum und unteren Jejunum signifikant, im unteren Ileum ist der Wert nach 24 Stunden Hunger signifikant höher als nach 8 Stunden. Die längeren Hungerzeiten liegen in den drei proximalen Darmabschnitten signifikant niedriger als 8 und 16 Stunden Hunger, im oberen Ileum liegen 5,7 und 11 Tage Hunger signifikant niedriger als der 1. Tag. Im unteren Ileum treten keine Unterschiede mehr auf (Tab.5,13).

Der Vergleich der Mittelwerte der Kontroll- und Versuchsgruppen (Versuch I) ergibt nach 8 und 16 Stunden Hunger ausser im oberen Ileum keine signifikanten Unterschiede. Nach längerem Hunger liegen die Kontrollgruppen signifikant höher als die Versuchsgruppen (Tab.5,9 und 11).

Die Ergebnisse der tagesrhythmischen Untersuchungen (Versuch II) ergeben deutliche, aber in den einzelnen Darmabschnitten nicht immer übereinstimmende Schwankungen (Abb. 9 und Tab.5,14). Die Varianzanalyse zeigt signifikante Unterschiede in allen Darmabschnitten ausser dem Colon (Tab.5,15). Die Maxima liegen ausser im Duodenum (16.00 Uhr und 4.00 Uhr) bei 16.00 Uhr und 24.00 Uhr. Die niedrigsten Werte werden um 8.00 Uhr und 20.00 Uhr

erreicht, im oberen Jejunum um 12.00 Uhr und 20.00 Uhr. Diese Unterschiede sind signifikant (Tab.5.16).

Daraus lässt sich insgesamt nach einem leichten initialen Anstieg der histochemischen Aktivität der LAP nach längerem Nahrungsentzug ein Abfall der Aktivität aufzeigen. Nach 3 Tagen Nahrungsentzug zeigt sich noch ein deutliches tagesrhythmisches Verhalten der LAP-Aktivität. Die Maxima und Minima liegen in den verschiedenen Darmabschnitten teilweise an verschiedenen Zeitpunkten.

5-Nucleotidase: Die Schwankungen der Mittelwerte der Kontrollgruppen (Versuch I) sind nur unerheblich (Tab.5.17). Die Varianzanalyse zeigt aber in den drei proximalen Darmabschnitten signifikante, im oberen Ileum einen auffälligen Unterschied (Tab.5.18). Unterschiede zwischen den einzelnen Mittelwertgruppen treten dagegen nur im unteren Jejunum auf und zwar auffällige Unterschiede zwischen 8 Stunden und 5 Tagen Hunger sowie zwischen 16 Stunden und 5 Tagen Hunger

(Tab.5.20). Bei den Versuchstieren (Versuch I) zeigt sich ein Abfall der Mittelwerte in den drei proximalen Darmabschnitten bereits nach 16 und 24 Stunden Hunger (Tab.5.17), und er verstärkt sich mit Fortdauer des Nahrungsentzuges noch. Die Varianzanalyse ergibt in den vier proximalen Darmabschnitten signifikante Unterschiede (Tab.5.18). Im Duodenum liegen die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen jeweils

zwischen 8,16 Stunden, 1,2 Tagen Hunger sowie den übrigen Zeitpunkten, im Jejunum zwischen 8,16 Stunden und 1 Tag Hunger und 3, 5, 7 und 11 Tagen Hunger, im unteren Jejunum nur noch zwischen 8 Stunden Hunger und allen übrigen Zeitpunkten (Tab.5.21).

Im Vergleich der Mittelwerte der Kontroll- und Versuchsgruppen (Versuch I) zeigen sich signifikant höhere Mittelwerte in den drei proximalen Darmabschnitten der Kontrolltiere schon nach 8 bzw. 16 Stunden Nahrungsentzug wie auch zu allen anderen Zeitpunkten (Tab.5.19).

Die statistische Auswertung der Untersuchungen zur Tagesrhythmik (Versuch II) ergibt nur in den proximalen Darmabschnitten gewisse Schwankungen (Tab.5.22). Die Varianzanalyse zeigt signifikante Unterschiede in den drei proximalen Darmabschnitten (Tab.5.23). In den beiden unteren Darmabschnitten und im Colon ist keine Aktivität mehr vorhanden. Der maximale Reaktionsausfall findet sich um 24.00 Uhr und 4.00 Uhr, im Duodenum zusätzlich um 16.00 Uhr. Die Minima liegen um 8.00 Uhr und 20.00 Uhr. Diese Unterschiede sind signifikant bzw. auffällig (Tab.5.24).

Zusammenfassend ist die Reaktionsstärke der NUC schon nach relativ kurzer Dauer des Nahrungsentzuges verringert und zeigt bei fortdauerndem Hunger die Tendenz zum weiteren Abfall.

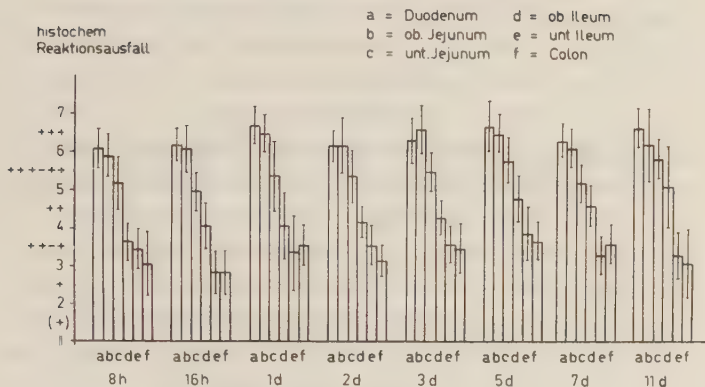
Bei den tagesrhythmischen Untersuchungen nach drei Tagen Hunger sind zweigipflige Schwankungen in den drei proximalen Darmabschnitten zu erkennen.

Succino-Dehydrogenase: Die Mittelwerte der Kontrollgruppen (Versuch I) lassen einen recht konstanten Reaktionsausfall erkennen (Abb. 10 a und Tab. S.25). Die Varianzanalyse ergibt signifikante Unterschiede im unteren Jejunum und Colon, auffällige Unterschiede im oberen Jejunum und unterem Ileum (Tab. S.26). Es treten jedoch keine Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen auf (Tab. S.28).

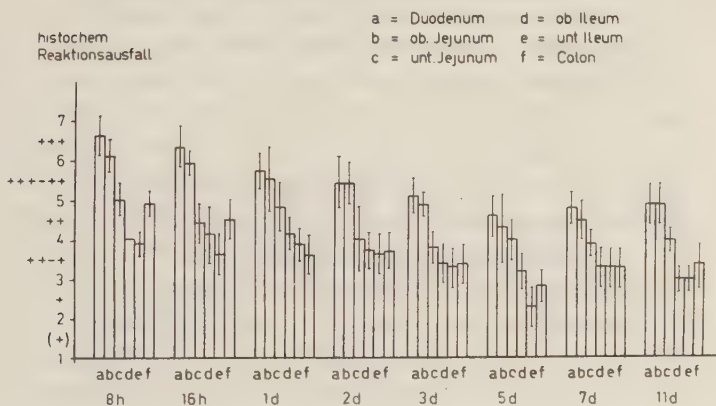
Dagegen wird die Reaktion bei den hunbertieren (Versuch I) in allen Darmabschnitten mit fortschreitender Dauer des Nahrungsentzuges schwächer (Abb. 10 b und Tab. S.25). Die Varianzanalyse zeigt in allen Darmabschnitten signifikante Unterschiede (Tab. S.26). Die Unterschiede zwischen den einzelnen Mittelwertgruppen sind signifikant oder auffällig zwischen den Tieren, die 8 Stunden bis 1 Tag gehungert haben (Maximum) und denen, die länger als 3 Tage gehungert haben (Tab. S.29).

Der Vergleich der Mittelwerte der Kontroll- und Versuchsgruppen (Versuch I) zeigt signifikant niedrigere Mittelwerte der Hungertiere ab dem 2. Tag Hunger, im Colon schon ab 8 Stunden Hunger (Tab. S.27).

Versuch I. Kontrolle: Succino - Dehydrogenase



Versuch I. Versuchsgruppe: Succino - Dehydrogenase



10a und b: Diagramm der Stärke des histochemischen Reaktionsausfalles der SPM bei den Kontrolltieren (a) und den Versuchstieren im fortschreitenden Hungerzustand (b). Die Höhe der Säulen entspricht den errechneten Mittelwerten mit eingezeichneter Standardabweichung. Auf der Ordinate sind der Bewertung für die statistische Überprüfung des histochemischen Reaktionsausfalles (1-8) die histochemisch gebräuchlichen Stärkegrade (+ - +++) zugeordnet.

Bei den tagesrhythmischen Untersuchungen (Versuch II) lassen die Mittelwerte lediglich eine Verstärkung der Reaktion um 16.00 Uhr erkennen (Tab.S30). Die Varianzanalyse ergibt in allen Darmabschnitten signifikante Unterschiede, ausser im oberen Jejunum, wo nur ein auffälliger Unterschied auftritt (Tab.S31). Das Maximum um 16.00 Uhr ist im Duodenum und oberen Jejunum gegen alle übrigen Zeitpunkt signifikant, im unteren Jejunum gegen 4.00 Uhr, 8.00 Uhr, 12.00 Uhr und 20.00 Uhr, im unteren Ileum gegen 4.00 Uhr, 8.00 Uhr, 12.00 Uhr und 24.00 Uhr, im Colon auffällig gegen 4.00 Uhr und 12.00 Uhr (Tab.S32).

Zusammenfassend zeigt die SDH einen deutlichen, kontinuierlichen Abfall der histochemischen Aktivität nach zwei Tagen Hunger und länger, während ein tagesrhythmisches Verhalten der Aktivität nach drei Tagen Hunger nicht erkennbar ist.

Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase: Wiederum ergibt die Auswertung der statistischen Ergebnisse bei den Kontrolltieren (Versuch I) nur geringe Schwankungen der Mittelwerte (Tab.S33). Die Varianzanalyse zeigt aber im oberen Jejunum, unteren Jejunum und unteren Ileum signifikante Unterschiede, im Colon einen auffälligen Unterschied (Tab.S34). Es treten dabei keine signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Mittelwertsgruppen auf (Tab.S36).

Wie bei der SDH fallen die Mittelwerte der Versuchsgruppen (Versuch I) deutlich mit fortschreitender

Dauer des Nahrungsentzuges ab (Tab.533), was sich auch in der Varianzanalyse (signifikante Unterschiede in allen Darmabschnitten - Tab. 34) und den Scheffé-Tests ausdrückt (Tab.537).

Der Vergleich der Mittelwerte der Kontroll- und Versuchsgruppen (Versuch I) ergibt ab 16 Stunden bzw. 1 Tag Hunger signifikant niedrige Mittelwerte für die Hungertiere.

In den tagesrhythmischen Untersuchungen (Versuch II) ergeben sich Schwankungen der Mittelwerte vor allem in den proximalen Darmabschnitten (Tab.538). Die Varianzanalyse zeigt in allen Darmabschnitten signifikante Unterschiede (Tab.539). Ein maximaler Reaktionsausfall im Duodenum tritt um 12.00 Uhr und 16.00 Uhr sowie um 4.00 Uhr auf. Diese Werte liegen signifikant höher als die um 8.00 Uhr und 20.00 Uhr. Ebenso sind die Mittelwerte im oberen Jejunum um 12.00 Uhr, 16.00 Uhr und 4.00 Uhr signifikant höher als die um 20.00 Uhr, auffällig sind die Unterschiede zwischen 8.00 Uhr und 16.00 Uhr sowie zwischen 8.00 Uhr und 20.00 Uhr. In den distalen Darmabschnitten ist nur ein Gipfel um 16.00 Uhr noch signifikant gegen 8.00 Uhr und 12.00 Uhr (Tab.540).

Im Duodenum und oberen Jejunum zeigt die G-6-PD also noch zweigipflige Schwankungen der histochemischen Reaktionsstärke. In den distalen Darmabschnitten sind die Ergebnisse zu uneinheitlich. Nach fortschreitendem Nahrungsentzug tritt ein deutlicher Abfall der Reaktionsintensität auf.

Isocitronensäure-Dehydrogenase: Die Mittelwerte der Kontrollgruppen (Versuch I) zeigen keine Schwankungen (Tab.S.41). Die Varianzanalyse ergibt signifikante Unterschiede im oberen Jejunum, oberen Ileum und Colon, auffällig Unterschiede im unteren Jejunum (Tab.S.42). Die Unterschiede zwischen den einzelnen Mittelwertsgruppen sind signifikant im oberen Jejunum zwischen 16 Stunden Hunger und 1 bzw. 2 Tagen Hunger, im oberen Ileum auffällig zwischen 1 Tag und 3 Tagen Hunger, im Colon zwischen 8 Stunden und 2 bzw. 3 Tagen Hunger (Tab.S.44).

Bei den Hungertieren (versuch I) lassen die Mittelwerte einen Abfall der Reaktionsstärke nach 3 Tagen Hunger und länger erkennen (Tab.S.41). Die Varianzanalyse ergibt signifikante Unterschiede in allen Darmabschnitten (Tab.S.42). Die Versuchsgruppen, die 5 Tage und länger gehungert haben, zeigen mit einigen Ausnahmen signifikant niedrigere Werte in allen Darmabschnitten als solche, die nur 8 bzw. 16 Stunden oder 1 Tag gehungert haben (Tab.S.45).

Bei Vergleich der Kontrollgruppen mit den Versuchsgruppen (Versuch I) treten im Duodenum nach 8 Stunden Hunger signifikant höhere Mittelwerte bei den Hungertieren auf. Ab 3 Tagen Hunger sind die Mittelwerte der Hungertiere im Duodenum und oberen Ileum signifikant niedriger als die Kontrolltiere. In den unteren Darmabschnitten sind die Befunde ähnlich, die Unterschiede aber nicht immer signifikant (Tab.S.43).

Die bei den tagesrhythmischen Untersuchungen Versuch II) auftretenden Schwankungen der Reaktionsstärke sind nicht sehr ausgeprägt (Tab. S. 46). Die Varianzanalyse zeigt in allen Darmabschnitten signifikante Unterschiede (Tab. S. 47). Im Duodenum liegt der maximale Reaktionsausfall bei 4.00 Uhr, 8.00 Uhr und 12.00 Uhr, das Minimum bei 16.00 Uhr und 20.00 Uhr. Die Unterschiede zwischen diesen Zeitpunkten sind signifikant. Im oberen Jejunum ist der Mittelwert um 20.00 Uhr signifikant niedriger als zu den übrigen Zeitpunkten, ebenso im Colon die Mittelwerte um 16.00 Uhr und 20.00 Uhr. In den übrigen Darmabschnitten treten keine signifikanten oder auffälligen Unterschiede auf. (Tab. S. 48).

Zusammenfassend lässt die IDH eine deutliche Tendenz zur Abnahme der Reaktionsstärke nach längerem Hungerzustand erkennen. Ein eindeutiges tagesrhythmisches Verhalten des histochemischen Reaktionsausfalls nach drei Tagen Hunger ist nicht mehr anzunehmen.

V. Diskussion

Nach verschiedenen Belastungen des Darmtraktes physiologischer oder auch pathologischer Art treten nicht nur makroskopisch erkennbar morphologische Veränderungen auf, sondern auch solche in der histotopochemischen Verteilung und der Reaktionsstärke bestimmter Enzyme. Normalerweise

geschieht das durch Substratinduktion, durch Spaltprodukte der Enzyme selbst, durch hormonellen Einfluss und andere bisher unbekannte Faktoren. Die Beziehung solcher Enzymveränderungen zu gleichzeitig auftretenden funktionellen Prozessen bietet die Möglichkeit, die enzymatische Basis der Funktion des Darmes zu interpretieren und pathologische Vorgänge zu erklären.

In der vorliegenden Arbeit wird die Einwirkung von akutem Hunger verschiedener Dauer auf einige Hydrolasen und Dehydrogenasen des Rattendarms untersucht, sowie das tagesrhythmische Verhalten dieser Enzyme nach drei Tagen Nahrungsentzug. Die erhaltenen Befunde werden im folgenden der Übersichtlichkeit wegen gesondert besprochen.

Es zeigt sich, dass nach fortdauerndem Hunger bei fast allen Enzymen Veränderungen zumindest der histochemischen Reaktionsstärke auftreten. Den Versuchstieren (Versuch I) war die Nahrung für 8 bzw. 16 Stunden, 1, 2, 3, 5, 7, und 11 Tage entzogen worden. Die APH lässt nach einem leichten Abfall anfangs einen Anstieg der Reaktionsstärke insgesamt nach 3 - 7 Tagen Hunger erkennen. Dabei tritt auch Aktivität in den Krypten der proximalen Darmabschnitte und den Zotten der distalen (oberes und unteres Ileum) auf, ein Befund der bei Kontrolltieren nie erhoben werden konnte.

Dagegen ändert sich bei der LAP nur die Reaktionsintensität, nicht aber die Verteilung in den einzelnen Anteilen des Darmes. Nach drei Tagen Hunger und länger zeigt sich eine deutliche Verringerung der Reaktionsstärke.

Die NUC lässt eine Abnahme der Reaktionsstärke in den drei proximalen Darmabschnitten schon nach sehr kurzer Dauer des Nahrungsentzugs erkennen. Die histotopochemische Verteilung ändert sich gegenüber den unbehandelten Kontrolltieren nicht.

Ein ähnliches Verhalten zeigen die SDH, G-6-PD und die IDH. Alle drei Enzyme fallen in ihrer Reaktionsstärke nach dem ersten, spätestens nach dem dritten Tag Hunger ab bis zu einem Minimum um den fünften bis siebten Tag Hunger. Die intrazelluläre Lokalisation ändert sich gegenüber den unbehandelten Kontrolltieren nicht.

Entsprechen die rein morphologischen Befunde der unbehandelten Kontrolltiere bei allen untersuchten Enzymen der vorliegenden Literatur, so ist das in Bezug auf das Verhalten der Enzyme nach akutem Hunger nicht immer der Fall. So scheint ein adaptives Verhalten der APH im Darmepithel, das heisst eine Zunahme der Aktivität nach Fütterung einer fett- oder eiweissreichen Kost, eine Abnahme nach akutem Hunger oder Eiweissentzug, gesichert zu sein (LAWRIE und YUDKIN (53), JACKSON (43), TUBA und ROBINSON (103), TUBA und DICKIE (104), TRIANTAPHYLLOPOULOS und TUBA (102),

PREBLECHNA und Mitarb. (79) gesichert zu sein. Die Befunde sind zum Teil aber recht widersprüchlich. So, konnten MEIER (60), HEBERT (36) und STENRAL (94) in ihren histochemischen Studien keinen Bezug der APM im Darmepithel zur Art der Nahrung bzw. zu einem Nahrungsentzug herstellen. Natürlich ist die Anwendung histochemischer Methoden auf quantitative Untersuchungen von Enzymaktivitäten nur beschränkt möglich. Auch ist es wahrscheinlich, dass erst nach einer gewissen Standardisierung der Versuchsbedingungen sich die Reproduzierbarkeit solcher Ergebnisse verbessern lässt.

Weitere Untersuchungen über die Reaktion des Enzymmusters im Darm liegen über die LAP vor. HSU und TARVER (42) bestimmten die LAP-Aktivität im Dün- und Dickdarm von Ratten. Tiere, die einen Tag gehungert hatten, wiesen keinen nennenswerten Unterschied zu unbehandelten Kontrolltieren auf. Setzte man die Aktivität in Bezug zum Mucosaprotein, schien sogar ein leichter Anstieg der Aktivität aufzutreten. Dies wurde mit der Tatsache in Verbindung gebracht, dass im Anfang einer Hungerperiode endogenes Protein, zum Beispiel Plasmaeiweiss, welches zur Bedarfsdeckung herangezogen wird, im Darm ab- und umgebaut wird. Dies würde mit den hier erhobenen Befunden übereinstimmen. RIECKEN und Mitarb. (85), die Ratten mit einem Nahrungsexpander (Kaolin) fütterten, fanden nach einiger Zeit einer überwiegende Zunahme der histochemischen Reaktionsstärke.

Über das Verhalten der NUC im Darmepithel nach Nahrungsentzug oder Zufuhr verschiedener Diätarten liegen keine Untersuchungen vor.

Eine signifikant reduzierte Aktivität der SDH (und sauren Phosphatase) nach zehnwöchigem Protein- entzug beobachteten TANDON und Mitarb. (98). Die Untersuchungen wurden am Jejunum von jungen Rat- ten ausgeführt. Die verminderte SDH-Aktivität liess auf einen herabgesetzten oxidativen Stoffwechsel schliessen. Die Ultrastruktur der Mitochondrien blieb aber unversehrt. Die Reaktion der SDH auf ver- schiedene nutritive Belastungen wurde vor allem an der Leber untersucht. TESSMAN (100) fand in der Rat- tenleber nach vier Tagen Hunger eine ausgeprägte Zu- nahme der Aktivität und diskutierte diesen Befund im Hinblick auf eine verstärkte Substratdehydrierung über das Succinooxydasesystem. NIELSON und KILGAARDT (68) untersuchten das Verhalten der SDH in der Rattenleber unter bestimmten Fütterungsperioden. Es war ihnen möglich, abhängig von den Fütterungs- perioden Schwankungen im Grössenbereich von 60 % nachzuweisen. Ähnlich grosse Schwankungen fanden sich jedoch auch bei ad lib. gefütterten Ratten. TIPTON (101) demonstrierte die Abhängigkeit der SDH-Aktivität vom verfügbaren Alloxazin-Nucleotid in verschiedenen Geweben.

Weiterhin wurden nach akutem Hunger herabgesetzte Aktivitäten der Maltase (LEVIN und Mitarb. (54) angegeben, der Sucrase (BLAIR und Mitarb. (7), der Lactase (KNUDSEN und Mitarb. (49) und der Amylase (JU und NASSET (46). Mc. NEILL und HAMILTON (59)

bestätigten diese Angaben im Hinblick auf die Maltase und Sucrase-Aktivität, während die die Lactase-Aktivität im Rattendarm unverändert fanden. SRIVASTAVA und HUBSCHER (93) konnten keinen Einfluss von Hunger auf die β -Galaktosidase in der Darmschleimhaut feststellen. Ebenso reagieren verschiedene Dipeptidasen im Darmepithel der Ratte nicht auf akuten Hunger (LEVIN und Mitarb. (54).

Die Beobachtungen, dass alle Enzyme mit Ausnahme der APM nach akutem Nahrungsentzug eine Verringerung der histochemischen Reaktionsstärke zeigen, könnte einerseits mit der veränderten Enzymkinetik aufgrund einer Anpassung des Stoffwechsels erklärt werden. Andererseits mögen morphologische Veränderungen an den Darmzotten eine aktuelle Verringerung der Aktivität hervorgerufen haben. Mc. NEILL und HAMILTON (59), die Ratten bis zu hundertzwanzig Stunden hungern liessen, demonstrierten eine positive Korrelation zwischen dem Dünndarmgewicht, bzw. dessen Abnahme, dem verringerten Mucosa-Protein und der herabgesetzten Aktivität der Maltase und Sucrase. Länger andauernder Hungerzustand verringert auch die Länge der Darmzotten und die Anzahl der sie begrenzenden Epithelzellen, was auf eine allgemeine Reduktion der gesamten Mucosaepithelien schliessen lässt (Mc. NEILL und HAMILTON (59). Ähnliche Beobachtungen wurden schon früher gemacht (SUE (95), HOOPER und BLAIR (40).

Ein Absinken der Zellmigrationsrate wurde bei hungernden Mäusen im Darm erstmals von DILLER und BLAUCH (20) festgestellt und von BROWN und Mitarb.(9)

HOPPER (41), Mc. NEILL und HAMILTON (59) sowie auch von WIEBECKE und Mitarb. (107). Zum Teil mittels autoradiographischer Methoden bestätigt. Man könnte nun postulieren, dass Hunger den primären Effekt auf die Stammzellen am Grunde der Krypten ausübt. Die Tatsache jedoch, dass bei der APH kein Abfall der Aktivität festzustellen ist, im Gegenteil nach drei bis sieben Tagen Hunger noch eine gewisse Verstärkung der Reaktion auftritt, und auch die mikroskopisch erkennbare Verringerung der Reaktionsstärke in der einzelnen Epithelzelle selbst, spricht gegen diese Annahme. Die verringerte Anzahl der Epithelzellen, hervorgerufen durch eine Inhibition der Stammzellen in den Krypten und die verstärkte (im Hungerzustand) Desquamation der Zottenspitzenepithelien vermag den Abfall der histochemischen Reaktionsstärke allein nicht zu erklären.

Ein wesentlicher Teil der Stoffwechselveränderungen im Hungerzustand ist durch eine Umstellung des Hormongleichgewichts bedingt. Es kommt zu einer erhöhten Produktion von Glucocorticoiden zur Förderung des Eiweissabbaus und der Gluconeogenese (RAPOPORT (80). VERZAR und Mitarb. (105) konnten in ihren Untersuchungen einen eindeutigen Bezug zwischen der histochemischen Aktivität der APH im Darm der Ratte und den Nebennierenrindenhormonen herstellen. Adrenalektomierte Tiere zeigten gegenüber unbehandelten Kontrollen eine deutlich verringerte Aktivität. Setzt man eine solche Abhängigkeit der APH voraus, könnte der leichte Anstieg der Reaktion durchaus mit der verstärkten Nebennierenrindentätigkeit in Verbindung zu bringen sein.

Weiterhin können Veränderungen der intestinalen Mikroflora, die begleitend bei Hunger auftreten, die Mucosaenzyme beeinflussen. Nach REDDY und Mitarb. (82) wirkt jedoch die Nahrung unabhängig von der Mikroflora auf verschiedenen Disaccharidasen des Darms ein.

Alle die gestörten physiologischen Funktionen des Darms im akuten Hungerzustand weisen demgegenüber auf eine veränderte Enzymkinetik hin. ACHORD (1) berichtet von einer erschwerten Resorption von Fetten, Kohlehydraten und Eiweiss, betont allerdings, dass schon kleine Nahrungsbeträge, wenn sie alle essentiellen Bestandteile enthalten, diese Defekte rückgängig machen und insgesamt die funktionelle Kapazität des Darms erhöhen. Dieser Mechanismus ist recht gut untersucht. LOJDA und FABRY (55) wiesen eine Aktivitätserhöhung verschiedener Enzymsysteme in der Darmschleimhaut von Ratten nach, die über längerer Zeit an intermittierendes Hungern adaptiert worden waren. Störungen im Fettstoffwechsel gaben GELB und Mitarb. (27) an, die eine signifikant reduzierte Fähigkeit des Hamsterdarms, Fettsäuren zu verestern, beschrieben. Der entscheidende Faktor für die funktionellen und morphologischen Veränderungen scheint dabei eher der Proteinmangel zu sein, da längerdauernder Proteinentzug Struktur und Ultrastruktur als auch die Funktion des Darms wesentlich empfindlicher schädigt als kurzzeitiger akuter Hunger (DÖNIACH und SHINER (21), SVOBODA und Mitarb. (97), HILL und Mitarb. (37), PROSPER und Mitarb. (77), TANDON und Mitarb. (98). Die gesamte metabolische Aktivität verschiedener stoffwechselaktiver Gewebe, so auch des Darms, erscheint nach ACHORD (1) im Hungerzustand herabgesetzt. KLEIBER und ROGERS (48)

konnten an der Ratte zeigen, dass der Abfall der Stoffwechselaktivität in einzelnen isolierten Organen und Geweben nicht konstant ist. Wie TAYLOR und KEYS (99) ausführten, ist der grösste Teil des Abfalls des Grundumsatzes nach Hunger der Regression der aktiven Gewebe zuzuschreiben, der kleinere Teil drückt eine Verminderung der Stoffwechselintensität aus.

Zusammenfassend ergibt sich aus diesen Befunden, dass zumindest zum Teil die herabgesetzte Aktivität der untersuchten Enzyme eine Reaktion auf die verminderte Stoffwechselintensität darstellt. Die Aktivitätserhöhung der APH kann auf einer im Hungerzustand vermehrten Sekretion von Cortisol beruhen. Veränderungen, die auf gröberen strukturellen und ultrastrukturellen Schädigungen der Darmepithelzellen beruhen, werden sich im histochemischen Reaktionsfall erst später, dann aber stärker ausprägen.

In diesem Zusammenhang sei noch kurz auf die Rolle der Koprophagie eingegangen. Nach BARNES und Mitarbeitern (4) ist das Wachstum von jungen Ratten, die an der Koprophagie gehindert wurden, um 15 - 25 % vermindert. Die Stimulation des Wachstums scheint aber auf einer vermehrten Nahrungsaufnahme zu beruhen und nicht auf einer verbesserten Ausnutzung der Nahrung. Die Notwendigkeit, die Faeces in einem geschlossenen Kreislauf wieder aufzunehmen, besteht deshalb, weil sie einen oder mehrere Faktoren enthalten, welche die Nahrungsaufnahme

stimulieren (BARNES und Mitarb. (4) .

Im folgenden werden die Befunde der tagesrhythmischen Untersuchungen nach drei Tagen Hunger besprochen:

Die Frage nach dem Variationsbereich der normalen Funktion und Struktur hat in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen. Vor allem die Ergebnisse von Experimenten biochemischer, histochemischer und histometrischer Art, die quantitativ beurteilt werden sollen, die Testung pharmakologisch wirksamer Substanzen und deren Wirkung an verschiedenen Tageszeiten haben dieses Probleme in den Vordergrund gerückt.

In der vorliegenden Arbeit wurden Ratten nach drei Tagen Nahrungsentzug auf tagesrhythmische Schwankungen ihrer Enzyme in der Darmschleimhaut untersucht (Versuch II). Es konnten bei der APE deutliche circadiane Schwankungen (Maximum um 16.00 Uhr und 24.00 Uhr, Minimum um 8.00 Uhr und 20.00 Uhr) festgestellt werden, ebenso bei der LAP (Maximum um 16.00 Uhr und 24.00 Uhr bzw. 4.00 Uhr, Minimum um 8.00 Uhr und 20.00 Uhr). Diese Veränderungen betreffen nur die histocnemische Reaktionsstärke, nicht die intrazelluläre Verteilung. Bei der NUC und der G-6-PD treten ähnliche Schwankungen nur in den proximalen Darmabschnitten und weniger einheitlich auf. Die SDH und IDH zeigen zwar in einigen Darmabschnitten noch statistisch signifikante Schwankungen der Reaktionsstärke, aber die ^{ein}Unheitlichkeit und

niedrige Amplitude lässt keine Interpretation mehr möglich erscheinen.

Tagesrhythmische Untersuchungen und die Interpretation ihrer Ergebnisse bereiten beträchtliche technische Schwierigkeiten. Das betrifft vor allem auch Enzymbestimmungen mit biochemischer und histochemischer Methodik. So ist es zu erklären, dass die bisher vorhandenen Untersuchungen recht spärlich sind. Erstmals wiesen KOLMGREN und SVANBORG (39) auf Schwankungen der alkalischen und sauren Phosphatase in der Rattenleber hin, fand aber keine statistisch signifikanten Unterschiede. GLICK und GREENBERG (29), die erwachsene männliche Ratten untersuchten, fanden keinen Unterschied in der quantitativen histochemischen Verteilung der SDH in der Nebenniere. Eine weitere Arbeit erbrachte dann doch deutliche circadiane Aktivitätsschwankungen, die mit der rhythmischen Produktion von Nebennierenrindenhormonen in Verbindung gebracht wurden (GLICK und Mitarb. (28) . Bedeutende circadiane Schwankungen der SDH und des Esterase-Systems in der Rattenleber erbrachten die Untersuchungen von MAYERSBACH (58). Diese Unterschiede waren sowohl biochemisch als auch histochemisch fassbar. Die dabei auftretenden Differenzen zwischen der biochemischen und histochemischen Aktivität wurden damit erklärt, dass der histochemische Nachweis vor allem die schwerlösliche (Desmo-) Fraktion erfasse, während biochemisch die gesamte Aktivität der Desmo- und Lyofraktion

bestimmt werde. Im Verhältnis dieser beiden Fraktionen zueinander bestehen aber nach den Untersuchungen von YAP (110) ebenfalls beträchtliche Tagesschwankungen.

KOBAYASHI und FARNER (5) berichten von quantitativen circadianen Veränderungen der sauren Phosphatase in der Hypophyse des Sperlings, abhängig von der Stimulation mit Licht. Ähnliche Beobachtungen macht SUROWIAK (96) bei der Maus.

Nach den ersten Untersuchungen von HOLMGREN (38) über den Glykogenrhythmus in der Leber, waren es vor allem die Gruppe um MAYERSBACH und einige andere, die sich aus der Sicht des Mediziners um den Tagesrhythmus bemühten. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in einer Fülle von Einzelpublikationen (WURTMANN und AXELROD (108), WURTMANN und Mitarb. (109), SHAMBAUGH und Mitarb. (89), ZIGMOND und Mitarb. (111), COHN (14), EGLI (22), PHILIPPS (74) und in einem zusammenfassenden Symposiumsbericht (MAYERSBACH (57) niedergelegt.

Alle diese Untersuchungen beziehen sich jedoch auf Veränderungen in der Leber. Über circadiane Schwankungen von Enzymaktivitäten liegen bisher nur spärliche Befunde vor. SIGESTAD (91) fand im Darmepithel der Maus ein Maximum der Zellproliferation um 2.00 Uhr. Auch über den Einfluss von alimentären Faktoren auf tagesrhythmische Schwankungen von Enzymaktivitäten ist wenig bekannt. Nahrungsentzug hat eine depressive Auswirkung auf die Schwankungsbreite der Tyrosintransaminase in der Leber (WURTMANN und Mitarb. (109). Eine eindrucksvolle Vermehrung der

Schwankungsbreite der G-6-PD in der Leber von an intermittierendes Hungern adaptierten Ratten demonstrierten POTTER und Mitarb. (76). Es sei möglich, durch zeitlich limitiertes Füttern eine Umkehr der Circadianschwankungen von Enzymsystemen zu erreichen, zumindest in der Leber. LACKEY und Mitarb. (52), die die Tagesrhythmik des Grundumsatzes bei unterschiedlich ernährten Ratten untersuchten, fanden starke adaptative Reaktionen der Stoffwechselaktivität. Ratten, die vierundzwanzig Stunden gehungert hatten, wiesen einen deutlich verminderten Grundumsatz und auch eine verminderte Amplitude der Schwankungen auf. Die Folge von kalorischer Restriktion sei eine herabgesetzte Stoffwechselintensität in vielen Geweben. Fluktuationen im Transport von L-Histidin durch die Darmwand wurden von FURUYA und YUGARI (26) gemessen. Es fand sich eine Abhängigkeit der Phasenrelation von der Zeit der Nahrungsaufnahme. Bei Hungertieren wurde der Rhythmus wenigstens einen Tag lang aufrechterhalten.

Nach diesen Befunden kann an tageszeitlichen Schwankungen innerhalb des Normbereiches nicht mehr gezweifelt werden. Im Gegenteil werden zeitliche Gesetzmässigkeiten, die als biologische Rhythmen erscheinen, insbesondere solche, die mit zeitlichen Strukturen der Umwelt korrespondieren, als grundlegende Eigenschaft alles Lebendigen gedeutet. Bis heute sind eine Vielzahl physiologischer Grössen bei Pflanzen, Tieren und Menschen

bekannt, die von einer endogenen circadianen Rhythmik gesteuert werden. Dabei wurden sowohl Schwankungen quantitativer als auch qualitativer Art beobachtet. Entdeckt wurde ^{das} Vorhandensein von tageszeitlichen Schwankungen schon früh beim Studium tagesperiodischer Blattbewegungen (BÜNNING (10)). In der Folgezeit konnten einige Eigenschaften der "physiologischen Uhr" aufgedeckt werden. So zeigte sich, dass die Periode einer freilaufenden Rhythmik (eine Rhythmik, die nicht durch äussere Faktoren gesteuert wird) zwar nur ungefähr vierundzwanzig Stunden beträgt, (deshalb "circa"-dianer Rhythmus), dass aber innerhalb individuell verschiedener Grenzen diese Periodenlänge recht genau eingehalten wird. Licht-Dunkel-Wechsel und der Wechsel von hohen und niedrigen Temperaturen sind die hauptsächlichlichen synchronisierenden Faktoren. Die Synchronisation erfolgt durch Einflussnahme von Licht und Temperatur auf die Phasenlage der endogenen Rhythmik. Verschiedene Organe zeigen aber eine Autonomie ihrer Rhythmik, so auch der Darm. BÜNNING (10) konnte nämlich an einem isolierten Darmausschnitt eines Goldhamsters einen tagesperiodischen Verlauf der Motorik nachweisen. Für die normale physiologische Koordination der Phasenrelationen scheint aber in den meisten Organen die Nebennierenrinde zu sorgen, deren Aktivität ihrerseits wieder von exogenen Faktoren abhängig ist (HAUS und HALBERG 35). So konnten RETIENE und Mitarb. (83) in Ratten eine für Nachttiere charakteristische parallele Tagesrhythmik für das adrenale und das Plasmacorticosteron

aufzeigen. Dies würde wiederum einen Bezug zu den hier erhaltenen Ergebnissen in Hinsicht auf die APM ergeben. Bei Annahme einer verstärkten Nebennierenrindentätigkeit im Hungerzustand und einer Abhängigkeit der APM von der Nebennierenrinde läge der ausgeprägte Tagesrhythmus der histochemischen Aktivität im Bereich des Möglichen. Allerdings ist nicht klar, inwieweit durch den Fortfall eines so wichtigen Zeitgebers wie der Futteraufnahme die Phasenrelationen gestört oder verschoben werden.

Bei tagesperiodischen Untersuchungen besteht natürlich auch die Möglichkeit, einen exogenen Rhythmus durch artefizielle Zeitgeber zu produzieren. MALBERG (32) spricht von einem "serial effect", der dann auftritt, wenn die zu untersuchenden Tiere einem bestimmten Stress in immer gleichen Abständen unterworfen werden, wie es zum Beispiel das Betreten des Tierstalles in gleichen Abständen, das Anfassen der Tiere, der Vorgang des Tötens darstellt. Ein solcher "serial effect" wird sich natürlich in einem endogenen Rhythmus hineinprojizieren oder einen solchen vortäuschen.

Grundsätzlich muss unterschieden werden zwischen Faktoren, die einen Rhythmus aufrechterhalten und solchen, die ihn synchronisieren. Das geht aus der Tatsache hervor, dass bei Verschwinden eines gegebenen dominanten Zeitgebers (etwa Licht), ein bestehender Rhythmus durchaus persistieren kann, wenn auch mit einem differenten

Timing. Man kann hieraus auf bestimmte endogene Faktoren schliessen, die für die Aufrechterhaltung des Rhythmus zuständig, normalerweise aber mit dem exogenen Zeitgeber gekoppelt sind. Diese endogene Circadianrhythmik kommt mit einem sehr geringen Energiebetrag aus, während die an die "Uhr" gekoppelten Vorgänge bei Reduktion des Energieumsatzes, zum Beispiel durch Atemgifte oder Temperaturerniedrigung, zuerst beeinträchtigt werden. Erst bei weiterer Reduktion wird die "Uhr" selbst beeinflusst (DÜNNING (10)).

Bei den hier vorgenommen Untersuchungen fällt als Zeitgeber die Nahrungsaufnahme weg. Wenn nun auch in vorausgegangenen Untersuchungen (ALLBACH (2), MIKA (61) an normal ernährten Ratten ein sehr ähnliches tagesrhythmisches Verhalten der Enzyme festgestellt wurde wie nach drei Tagen Nahrungsentzug, so darf doch daraus nicht der Schluss gezogen werden, dass die Nahrungsaufnahme keine Rolle im Sinne eines Zeitgebers spielt. Es ist nämlich bekannt, dass ein durch exogene Faktoren induzierter Rhythmus auch nach einer Änderung oder dem Verschwinden dieser Faktoren noch längere Zeit bestehen bleibt und erst allmählich sich ein anderer Rhythmus einstellt (ASCHOFF (3), DÜNNING (10)). Im Hungerzustand entfällt jedoch die unmittelbare Wirkung der Nahrungsstoffe im Sinne einer Substratinduktion. Der Abfall der histochemischen Aktivität aller hier untersuchten Enzyme mit Ausnahme der APh spricht dafür, dass die

Enzymaktivität bei normal ernährten Tieren zumindest zum Teil substratinduziert ist. Die starke Aktivitätsabnahme aller Dehydrogenasen weist auf eine ausgeprägte Depression des intermediären Stoffwechsels der Zellen im Hungerzustand hin, worauf auch schon ACHORD (1) aufmerksam gemacht hat. Neben der Umstellung des Stoffwechsels auf die besonderen Gegebenheiten des Hungerzustandes dürften nach absolutem Nahrungsentzug von mehr als drei Tagen auch morphologische Veränderungen bestimmter Zellorganellen für den Abfall der Enzymaktivitäten eine Rolle spielen. WIEBECKE und Mitarb. (107) konnten demonstrieren, dass Hunger zu einer herabgesetzten Migrationsrate der Zottenepithelien und damit zu deren Überalterung führt.

Nachdem VERZAR und Mitarb. (105) gezeigt haben, dass die Aktivität der APH der Darmschleimhaut von der Nebennierenrindentätigkeit abhängig ist, ist es wahrscheinlich, dass dieses Enzym auch im Hungerzustand durch eine erhöhte Glucocorticoidproduktion, die sich, wie RAPOPORT (80) angibt, während fortdauerndem Hunger einstellt, stimuliert wird und ihr persistierendes tagesrhythmische Verhalten Ausdruck des von RETIENE und Mitarb. (83) für Ratten beschriebenen Adrenalzyklus ist.

VI. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die histochemische Aktivität einiger Hydrolasen und Dehydrogenasen in der Darmschleimhaut von Ratten nach fortschreitendem Hunger sowie das tagesrhythmische Verhalten dieser Enzyme nach drei Tagen akutem Hunger untersucht. Nach visueller Auswertung der Präparate wurden die erhaltenen Werte gemittelt und mittels der einfachen Varianzanalyse und eines anschließenden Scheffé-Tests statistisch ausgewertet.

Nach fortschreitendem Hunger (Versuch I) änderte sich die histotopochemische Verteilung nicht wesentlich. Dagegen zeigte sich bei der Leucylaminopeptidase, 5-Nucleotidase, Succino-Dehydrogenase, Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase und der Isocitronensäure-Dehydrogenase ein statistisch signifikanter Abfall der histochemischen Aktivität gegenüber den Kontrolltieren nach spätestens zwei Tagen Hunger. Es wurden fünf Dünndarmabschnitte und ein Dickdarmabschnitt untersucht. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase verhielt sich uneinheitlich, zeigte aber keine Tendenz zum Abfall auch nach längerer Dauer des Nahrungsentzugs.

Die tagesrhythmischen Untersuchungen (Versuch II) nach drei Tagen Hunger ergaben statistisch signifikante Schwankungen der alkalischen Phosphatase, Leucylaminopeptidase und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase.

Die erhaltenen Ergebnisse wurden anhand der vorliegenden Literatur in morphologischer und enzymkinetischer Hinsicht diskutiert. Es wurde versucht, eine Verbindung zwischen den Veränderungen der histochemischen Aktivität und dem im Hungerzustand verringerten oxidativen Stoffwechsel und der veränderten Enzymkinetik herzustellen.

VII. Literaturverzeichnis

- 1) ACHORD, J.L.: Acute effects of the fasting on gastrointestinal structure and function. Med. Times 45, 441 (1967)
- 2) ALLBACH, G.: Histochemische Untersuchungen über das Verteilungsmuster und circadiane Verhalten von Darmschleimhautenzymen erwachsener männlicher Ratten. Med. Diss. Mainz 1971
- 3) ASCHOFF, J.: Circadian clocks. Amsterdam 1965
- 4) BARNES, R.H.; FIALA, G.; KWONG, R.: Decreased growth rate resulting from prevention of coprophagy. Fed. Proc. 22, 125 (1963)
- 5) BARNET, R.J.: The demonstration with the electron microscope of the end products of histochemical reactions in relation to fine structure of cells. Exp. Cell Res. 7, 65 (1959)
- 6) BIEMPICA, L.; NOVIKOFF, A.B.; KAHN, B.J.: Biochemical cytology of absorptive cells in the rat intestine. J. Histochem. Cytochem. 10, 654 (1962)
- 7) BLAIR, D.G.R.; YAKIMETS, W.; TUBA, J.: Rat intestinal sucrase. II. The effect of rat age and sex and of diet on sucrase activity. Canad. J. Biochem. Physiol. 41, 917 (1963)

- 8) BOURNE, G.H.: The distribution of alkaline phosphatase in various tissues. Quart. J. Exp. Physiol. 32, 1 (1943)
- 9) BROWN, H.O.; LEVINE, M.L.;
LIPKIN, M.: Inhibition of intestinal epithelial renewal and migration induced by starvation. Amer. J. Physiol. 205, 868 (1963)
- 10) BÜNNING, E.: Circadiane Rhythmik
In: Mayersbach, H.v. Hrsg.
The cellular aspects of biorhythms, S. 1
Berlin, Heidelberg, New York 1967
- 11) BÜNNING, E.: Die physiologische Uhr.
Berlin, Göttingen, Heidelberg 1963
- 12) BUNO, W.;
GERMINO, N.J.: Distribution of succinic dehydrogenase in the organs of the adult albino rat. Acta nat. 33, 161 (1958)
- 13) BURSTONE, M.S.;
FOLK, J.E.: Histochemical demonstration of aminopeptidase. J. Histochem. Cytochem. 4, 217 (1956)
- 14) COHN, C.L.: Influence of feeding habits and adrenal cortex on diurnal rhythm of hepatic tyrosine transaminase activity. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 133, 460 (1970)

- 15) CRANE, R.K.: Enzymes and malabsorption: a concept of brushborder membrane disease. Gastroenterology 50, 245 (1966)
- 16) DAWSON, J.; PRYSE-DAVIES, J.: The distribution of certain enzyme systems in the normal human gastrointestinal tract. Gastroenterology 44, 745 (1963)
- 17) DEANE, H.W.; DEMPSEY, E.W.: The localization of phosphatases in the Golgi region of intestinal and other epithelial cells. Anat. Rec. (Am.) 93, 401 (1945)
- 18) DEIMLING, O.H.v.: Die Darstellung phosphatfreisetzender Enzyme mittels Schwermetallsimultanmethoden. Histochem. 4, 48 (1964)
- 19) DICKIE, M.; ROBINSON, M.J.; TUBA, J.: The role of alkaline phosphatase in intestinal absorption. III. The effects of various fatty acids on levels of the enzymes in intestinal mucosa. Canad.J.Biochem.Physiol. 33, 83 (1955)
- 20) DILLER, I.C.; BLAUCH, B.M.: Influence of diet on mitotic division in intestinal epithelium of mouse. Growth 10, 331 (1946)

- 21) DONAICH, I. Duodenal and jejunal biopsies.
II. Histology.
Gastroenterology 33, 71 (1957)
- 22) EGLI, K.: Histochemische Untersuchungen der
Amylophosphorylase in der Mäuseleber
Physiologische Tagesschwankungen
und postnatale Entwicklung.
Histochemie 8, 164 (1967)
- 23) EICHHOLZ, A.
CRANE, R.K.: Tris disruption of isolated brush
hamster brush borders and density
gradient separation of fractions.
J. Cell.Biol. 26, 687 (1965)
- 24) EMMEL, V.: Alkaline phosphatase in the Golgi zone
of absorbing cells of the small intestine.
Anat.Rec. (Am.) 91, 39 (1945)
- 25) FODDEN, J.H.: Gastric and duodenal tissue alkaline
phosphatase in peptic ulceration.
Gastroenterology 23, 372 (1953)
- 26) FURUYA, S.;
YUGARI, Y.: Daily rhythmic change in the transport
of Histidine by everted sacs of rat
small intestine.
Biochim. Biophys. Acta 241, 245 (1971)

- 27) GELB, A.M.; DAVIDSON, M.J.;
KESSLER, J.L.: Effect of fasting on sterification
of fatty acids by the small intestine
in vitro.
Amer. J. Physiol. 207, 1207 (1964)
- 28) GLICK, D.; FERGUSON, R.B.;
GREENBERG, L.J. und
Mitarb.: Circadian studies on succinic
dehydrogenase, panthothenate and
biotin of rodent animal.
Amer. J. Physiol. 200, 811 (1961)
- 29) GLICK, D.;
GREENBERG, L.J.: The quantitative histological
distribution of the succinic dehydrogenase
system in the rat adrenal and the
influence of hypophysectomy, ACTH and
cortisone.
Endocrinology 63, 778 (1958)
- 30) GOMORI, G.: Microtechnical demonstration of
phosphatase in tissue sections.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 42, 23 (1939)
- 31) GREENSTEIN, J.F.: Enzymes in normal and neoplastic animal
tissue.
Research Conf. Cancer 192 (1945)
- 32) HALBERG, F.: Physiologic 24-hour periodicity:
General and procedural considerations
with reference to the adrenal cycle,
Z. Vitamin-, Hormon-, Fermentforsch.
10, 225 (1958)

- 33) HARDONK, M.J.: 5-nucleotidase.
I. Distribution of 5-nucleotidase
in tissues of rat and mouse.
Histochemie 12, 17 (1968)
- 34) LARO, E.N.; BRIN, M.
FALOOK, W.W.: Fasting in obesity.
Thiamine depletion as measured by
erythrocyte transketolase changes.
Arch. Intern. Med. 117, 175 (1966)
- 35) HAUS, E.; HALBERG, F.: Der circadiane Adrenalzyklus und
seine Bedeutung für die Reaktions-
bereitschaft der Nebennierenrinde.
Wiener Z. Inn. Med. 43, 361 (1962)
- 36) HELBERT, S.: Les phosphatases alcalines de l'
intestine.
Etude histochemique expérimentale.
Arch.Biol.(Paris) 61, 235 (1950)
- 37) MILL, R.B.; PROSPER, J.:
HIRSCFIELD, J.S.; KERN,
F.Jr.: Protein starvation and the small
intestine.
I. The growth and morphology of the
small intestine in weanling rats.
Exp.Molec. Path. 8, 66 (1968)
- 38) HOLMGREN, H.J.: Studien über 24-Std.-rhythmische
Variationen des Darm-, Lungen- und
Leberfetts nebst Untersuchungen
über die Morphologie der Fettresorp-
tion des Leberfetts, des Leberglyko-
gens und der Gallenvorstadien; sowie

Über die 24-Std.-rhythmische Variationen im Gehalt des Pankreas an Zymogengranula.

Acta Med.Scand. 74, 187 (1936)

39) Holmgren, H.J.;

SVANBORG, A.:

Variations of the acid and alkaline phosphatase activity in the livers of white rats during the 24 hours period. Acta.Med.Scand. 87, 187 (1950)

40) HOOPER, C.S.:

BLAIR, M.:

The effect of starvation on epithelial renewal in the rat duodenum. Exp. Cell.Res. 14, 175 (1958)

41) HOPPER, A.F.:

Cell population changes in the intestinal epithelium following starvation and protein depletion. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 128, 695 (1968)

42) HSU, L.; TARVER, H.:

Distribution of the activity of various hydrolases, transaminases and GDH in the digestive tract of fed and fasted rats. Gastroenterology 53, 78 (1967)

43) JACKSON, S.H.:

The effect of food ingestion on intestinal and serum alkaline phosphatase in rats. J.Biol.Chem. 198, 553 (1952)

44) JERVIS, H.R.:

Enzymes in the mucosa of the small intestine of the rat, the guinea pig and the rabbit. J.Histochem.Cytochem. 11, 692 (1963)

- 45) JOHNSON, F.R.;
KUGLER, J.H.: The distribution of alkaline phosphatase in the mucosal cells of the small intestine of the rat, cat and dog.
J.Anat. 87, 247 (1953)
- 46) JU, J.S.; NASSET, E.S.:
Amylase in pancreas, intestine, liver, and serum during fasting, non-protein diet and malnutrition.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 100, 834 (1959)
- 47) KABAT, E.A.:
FURTH, J.: A histochemical study of the distribution of alkaline phosphatase in various normal and neoplastic tissues.
Amer.J.Path. 17, 303 (1941)
- 48) KLEIBER, M.
ROGERS, T.A.: Energy metabolism.
Ann.Rev.Physiol. 23, 5 (1961)
- 49) KNUDSEN, K.B.; BELLAMY, H.M.;
LECOCQ, F.R.; BRADLEY, E.M.;
WALSH, J.D.: Effect of fasting and refeeding on the histology and disaccharidase activity of the human intestine.
Gastroenterology 55, 46 (1968)

- 50) KOBAYASHI, H.;
FARNER, D.S.: The effect of photoperiodic stimulation on phosphatase activity in the hypothalamo-hypophyseal system of the white-crowned sparrow. Z. Zellforschung 53, 1 (1960)
- 51) KOLLER, S.: Neue graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Darmstadt 1969
- 52) LACKEY, W.W.; BROOME, L.A.;
GOETTING, J.A.
und Mitarb.: Diurnal patterns of rats determined by calorimetry under controlled conditions. J. Appl. Physiol. 29, 824 (1970)
- 53) LAWRIE, N.R.;
YUDKIN, J.: Effect of diet on the intestinal phosphatase of the rat. Biochem. J. 45, 438 (1949)
- 54) LEVIN, R.J.; NEWBY, H.;
SMYTH, D.H.: The effects of adrenalectomy and fasting on the intestinal function in the rat. J. Physiol. (London) 177, 58 (1965)
- 55) LOJDA, Z.;
FABRY, P.: Histochemie und Histologie des Dünndarms der an intermittierendes Hungern adaptierten Ratten. Acta Histochem. 8, 289 (1959)

- 56) MANHEIMER, L.H.;
SELIGMAN, A.M.: Improvement in the method for demonstration
of alkaline phosphatase and its use in
study of normal and neoplastic tissues.
J. Nat. Cancer Inst. 9, 181 (1948)
- 57) MAYERSBACH, H.v. Hrsg.:
The cellular aspects of biorhythms.
Berlin, Heidelberg, New York 1967
- 58) MAYERSBACH, H.v.: Biochemisch und histochemisch fassbare
Circadianschwankungen in Organen
standardisierter Versuchstiere.
Verh. Deutsch. Ges. Inn. Med. 73, 942
(1967)
- 59) McNEILL, L.K.;
HAMILTON, J.R.: The effect of fasting on disaccharidase
activity in the rat small intestine.
Pediatrics 47, 65 (1971)
- 60) MEIER, A.M.: Der Einfluss der akuten Inanition und
des Alloxandiabetes auf die Phosphatasen
verschiedener Organe. Histochemische
Untersuchungen an Mäusen und Ratten.
Acta Anat. 11, 192 (1950)
- 61) MIKA, H.: Histochemische Untersuchungen über das
Verteilungsmuster und circadiane Verhalten
hydrolytischer Enzyme der Darmschleimhaut
erwachsener männlicher Ratten.
Med. Diss. Mainz 1972

- 62) MONIS, B.; NACHLAS, M.M.;
SELIGMAN, A.: A study of leucine aminopeptidase
in neoplastic and inflammatory
tissue with a new histochemical
method.
Cancer 12, 601 (1959)
- 63) MOOG, F.: Developmental adaptatios of alkaline
phosphatase in the small intestine.
Fed. Proc. 21, 51 (1962)
- 64) MYREN, G.; GJONE, E.;
SKREDE, S.: Succinic dehydrogenase activity
and histological changes of the small
intestine mucosa in patients with
gastrointestinal deseases.
Acta Patho. Microbiol. Scand. 64, 161
(1965)
- 65) NACHLAS? M.M.; CRAWFORD, D.T.;
SELIGMAN, A.M.: The histochemical demonstration
of leucine aminopeptidase.
J. Histochem. Cytochem. 5, 264 (1957)
- 66) NACHLAS, M.M.; TSOU, K.C.;
De SOUZA, E. und
Mitarb.: Cytochemical demonstration of succinis
dehydrogenase by the use of a new
p- nitrophenyl substituted
ditetrazole.
J. Histochem. Cytochem. 5, 420 (1957)

- 67) NACHLAS, M.M.; WALKER, D.G.;
SELIGMAN, A.M.: A histochemical method for the
demonstration of diphosphopyridine
nucleotide diaphorase.
J. Biophys. Biochem. Cyt. 4, 29 (1958)
- 68) NIELSON, R.R.;
KLITGAARDT, H.M.: Changes in succinic dehydrogenase
activity related to feeding.
Amer. J. Physiol. 201, 37 (1961)
- 69) NOACK, R.; SCHENK, G.;
PROLL, J. und Mitarb.:
Zur Lokalisation der alkalischen
Phosphatase in den Bürstensäumen aus
dem proximalen und distalen Dünndarm-
drittel erwachsener Ratten und
von Rattensäuglingen.
Biochem. Z. 343, 146 (1965)
- 70) PADYKULA, H.A.: The localization of succinic
dehydrogenase in tissue sections
of the rat.
Amer. J. Anat. 91, 107 (1952)
- 71) PADYKULA, H.A.; STAUSS, E.W.;
LADMAN, A.J. und
Mitarb.: A morphological and histochemical
analysis of the human jejunal
epithelium in nontropical sprue.
Gastroenterology 40, 735 (1961)

- 72) PEARSE, A.G.E.: Histochemistry.
Theoretical and Applied.
London 1960
- 73) PEARSE, A.G.E.;
RIECKEN, E.O.: Histology and cytochemistry of the
cells of the small intestine, in
relation to absorption.
Brit. Med. Bull. 23, 3 (1967)
- 74) PHILLIPS, L.J.: Circadian rhythm of mouse liver
phosphoenolpyruvate carboxykinase.
Amer. J. Physiol. 218, 1440 (1970)
- 75) PLANTEYDT, H.T.;
WILLIGHAGEN, R.G.J.: Enzyme histochemistry of the human
stomach, with special reference to
intestinal metaplasia.
J. Bact. 80, 317 (1960)
- 76) POTTER, V.R.; GEBERT, R.A.;
PITOT, H.C.: Enzyme levels in rats adapted to
36-hour fasting.
Advances enzym. Regul. 4, 247 (1966)
- 77) PROSPER, J.; MURRAY, R.L.;
KERN, F. jr.: Protein starvation and the small
intestine.
II. Disaccharidase activities.
Gastroenterology 55, 223 (1968)
- 78) PRZELECKA, A.; EJSMONT, G.;
SARZALA, M.G. und
Mitarb.: Cytochemical investigation on the
alkaline phosphatase activity in the
small intestinal mucosa in the mouse.
5 th Intern. Congr. Biochem. Moscow 2,
27 (1961)

- 79) PRZELECKA, A.; EJSMONT, G.;
SARZALA, M.G. und
Mitarb.: Alkaline phosphatase activity and
the synthesis of intestinal
phospholipids.
J. Histochem. Cytochem. 10, 596 (1962)
- 80) RAPOPORT, S.U.: Medizinische Biochemie.
Berlin 1969
- 81) RASSNER, G.; PETZOLDT, D.;
BRAUN-FALCO, O.: Zur quantitativen Bewertung
histochemischer Dehydrogenasen=
darstellungen.
Histochemie 5, 231 (1965)
- 82) REDDY, B.S.; PLEASANTS, J.R.;
WASTMAN, B.S.: Effect of intestinal microflora
on calcium, phosphorus and magnesium
metabolism in rats.
J. Nutr. 99, 353 (1969)
- 83) RETIENE, K.; ZIMMERMANN, E.;
SCHINDLER, W.J. und
Mitarb.: A correlative study of endocrine
rhythms in rat.
Acta Endocrin. 57, 615 (1968)
- 84) RICHTERICH, W.: Der histochemische Nachweis der
alkalischen Phosphatase; kritische
Bemerkungen zur Methode, Technik
und Interpretation der Resultate.
Acta Anat. 15, 343 (1952)

- 85) RIECKEN, E.O.; DOWLING, R.H.;
BOOTH, C.C. und
Mitarb.: Histochemical changes in the rat
small intestine associated with
enhanced absorption after high bulk
feeding.
Enzymol. Biol. Clin. 5, 231 (1965)
- 86) RUDOLPH, G.;
KLEIN, H.J.: Histochemische Darstellungen und
Verteilung der Glucose-6-phosphat-
Dehydrogenase in normalen Ratten-
organen.
Histochemie 4, 238 (1964)
- 87) RUTENBURG, A.M.; GOLDBARG, J.;
PINEDA, E.P.: Leucine amino-peptidase activity;
observations in patients with cancer
of the pancreas and other diseases.
New Eng. J. Med. 259, 469 (1958)
- 88) SCHOBEL, B.; STEFFENELLI, N.;
WEWALKA, F. und
Mitarb.: Über die sogenannte Leucinamino-
peptidase der Duodenalschleimhaut
und des Duodenalsaftes.
Klin. Wochenschr. 42, 628 (1964)
- 89) SHAMBAUGH, G.E.; WARNER, D.A.;
BEISEL, W.R.: Hormonal factors altering rhythmicity
of tyrosine-alpha-ketoglutarate
transaminase in rat liver.
Endocrinology 81, 811 (1967)

- 90) SEMITKA, T.K.;
LESTER, S.: Enzymatic histochemistry of
gastrointestinal mucous membrane.
Fed. Proc. 19, 897 (1960)
- 91) SIGESTAD, C.P.: Further studies on the circadian
rhythm in the proliferative activity of
mouse intestinal epithelium.
Experientia 26, 1321 (1970)
- 92) SOLIMANO, G.; BURGESS, E.A.;
LEVIN, B.: Protein-caloric malnutrition:
Effect of deficient diets on enzyme
levels of jejunal mucosa.
Brit.J. Nutr. 21, 55 (1967)
- 93) SRIVASTAVA, L.M.;
HUBSCHER, G.: Glucose metabolism in the mucosa of
the small intestine. Glycolysis in
subcellular preparations from the
cat and rat.
Biochem.J. 100, 458 (1966)
- 94) STENRAM, U.: Effect of high carbohydrate, fat or
protein diets and of starvation on
histochemically determined phosphatases
in epithelium of small intestine
in rat.
Acta anat. 20, 101 (1954)
- 95) SUN, T.P.: Histophysiological study of epithelial
changes in the small intestine of the
albino mouse after starvation and re-
feeding.
Anat. Rec. 34, 341 (1927)

- 101) TIPTON, S.R.: Relationship of certain vitamin B factors and response to thyroid of succinoxidase and cytochromeoxidase of rat liver.
Amer.J.Physiol. 161, 29 (1950)
- 102) TRIANTAPHYLLOPOULOS, E.;
TUBA, J.: Changes in intestinal and serum alkaline phosphatase levels during absorption of certain amino acids.
Canad.J.Biochem.Physiol. 37, 711 (1959)
- 103) TUBA, J.;
ROBINSON, M.J.: Response of intestinal alkaline phosphatase of fasted rats to forced feeding of fat.
J.Biol.Chem. 203, 947 (1953)
- 104) TUBA, J.; DICKIE, N.;
Role of alkaline phosphatase in intestinal absorption; effects of various proteins on levels of enzyme in intestinal mucosa.
Canad.J.Biochem. Physiol. 33, 89 (1955)
- 105) VERZAR, F.; SAILER, E.;
RICHTERICH, R.: Einfluss der Nebennierenrinde auf die alkalische Phosphatase der Dünndarmschleimhaut.
Helv.Physiol.Acta 10, 231 (1952)

- 106) WATTENBERG, L.W.: Histochemical study of aminopeptidase
in metaplasia and carcinoma of the
stomach.
Arch. Path. 67, 281 (1959)
- 107) WIEBECKE, B.R.; HEYBOWITZ, R.;
LÖHRS, U. und
Mitarb.: Der Einfluss des Hungers auf die
Proliferationskinetik der Dünn-
und Dickdarmschleimhaut der Maus.
Virchows Arch. path. Anat. 4, 164 (1969)
- 108) WURTMANN, R.J.;
AXELROD, J.: Daily rhythmic changes in tyrosine
transaminase activity of the rat liver.
Proc. Nat. Acad. Sci. 57, 1595 (1967)
- 109) WURTMANN, R.J.; SHOEMAKER, W.J.;
LARIN, F.: Mechanism of the daily rhythm in
hepatic tyrosine transaminase activity:
role of dietary tryptophan.
Proc. Nat. Acad. Sci. 59, 800 (1968)
- 110) YAP, P.: Circadian phase differences of
lyso- and desmoenzymes.
In: Mayersbach, H.v. Hrsg.: The
cellular aspects of biorhythms, S. 143.
Berlin, Heidelberg, New York 1967
- 111) ZIGMOND, M.J.; SHOEMAKER, W.J.;
LARIN, F. und
Mitarb.: Hepatic tyrosine transaminase rhythm:
interactions of enviromental
lighting, food consumption and dietary
protein content.
J. Nutr. 98, 71 (1969)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. A. Schäfer für die Überlassung des Themas und seiner und Herrn Dr. P. Höhns freundlicher Unterstützung.

Die statistischen Auswertungen wurden im Institut für Statistik und Dokumentation der Universität durchgeführt. Ich danke Frau Dr. Ehrenberg-Kieckebusch für ihre Beratung und Unterstützung bei der Durchführung.

Lebenslauf

Ich wurde am 20.9.1948 als drittes Kind des Assistenzarztes Dr. med. Gerhard Kraye und seiner Ehefrau Erna, geb. Müssig, in Würzburg geboren. 1949 erfolgte die Übersiedlung nach Nierstein am Rhein, wo ich von 1954 bis 1958 die Volksschule besuchte. 1958 trat ich in das Staatliche Neusprachliche Gymnasium Oppenheim ein und erlangte 1966 nach Bestehen der Reifeprüfung die Berechtigung für ein Hochschulstudium. Ich entschied mich für das Studium der Humanmedizin und wurde zum Wintersemester 1966 an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz immatrikuliert. 1968 bestand ich das Vorphysikum, 1969 das Physikum. Das klinische Studium absolvierte ich an den Universitätskliniken der Johannes Gutenberg-Universität Mainz. Die vorliegende Inauguraldissertation wurde von mir am Pathologischen Institut (Direktor: Prof. Dr.H.Bredt) in Mainz unter der Obhut von Herrn Prof. Dr. A.Schäfer im Oktober 1970 in Angriff genommen. In der Zwischenzeit habe ich am 6.12.1972 das medizinische Staatsexamen bestanden. Mein weiteres Interesse gilt nun der Ausbildung zum Facharzt für Allgemeinmedizin.

